

ZEITSCHRIFT

FÜR INDUKTIVE ABSTAMMUNGS- UND

VERERBUNGSLEHRE

HERAUSGEGEBEN UND GELEITET

VON

CH. AUERBACH · H. BAUER · E. HADORN · A. KÜHN
G. MELCHERS · F. OEHLKERS · K. PÄTAU · H. STUBBE

85. BAND 4. (SCHLUSS-)HEFT

MIT 56 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 16. DEZEMBER 1953)



BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER - VERLAG

1953

Z. Ver-
erbungslehre

Preis DM 38.60

Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre.

Begründet 1908. Herausgegeben von C. Correns, V. Haecker, G. Steinmann, R. v. Wettstein, Erwin Baur u. a. Band 1—81 (1944) Berlin, Gebr. Bornträger, ab Band 82 (1948) Berlin, Springer.

Die „Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre“ erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Manuskripte sind unter Berücksichtigung der besonderen Arbeitsrichtung an einen der nachstehenden Herausgeber zu senden:

Dr. Charlotte Auerbach, Institute of Animal Genetics, Kings Buildings, West Mains Road, Edinburgh/Schottland,

Professor Dr. Hans Bauer, Wilhelmshaven, Max Planck-Institut für Meeresbiologie, Anton-Dohrn-Weg,

Professor Dr. Ernst Hadorn, Zürich (Schweiz), Zoologisches Institut der Universität, Künstlergasse 16,

Professor Dr. Alfred Kühn, Max Planck-Institut für Biologie, Tübingen, Spemannstraße 34,

Professor Dr. Georg Melchers, Tübingen, Max Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 1,

Professor Dr. Friedrich Oehlkers, Freiburg i. Br., Botanisches Institut, Schänzlestraße 9—11,

Professor Dr. Klaus Patau, Department of Botany, Biology Building, University of Wisconsin, Madison 6 Wis. USA.,

Professor Dr. Hans Stubbe, Gatersleben (Bezirk Dessau), Institut für Kulturpflanzenforschung.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Bei den Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Von jeder Arbeit werden 75 Sonderabdrucke unentgeltlich geliefert.

Dissertationen und Habilitationsschriften werden als solche nicht in die Zeitschrift aufgenommen. Ist eine in die Zeitschrift aufgenommene Arbeit als Dissertation oder Habilitationsschrift von einer Fakultät angenommen, darf dies durch eine Fußnote vermerkt werden. Mit allen für eine Dissertations- oder Habilitationsschrift notwendigen Sonderausstattungen (besonderer Titel, Lebenslauf usw.) befaßt sich der Verlag grundsätzlich nicht, er stellt jedoch den Doktoranden bzw. Dozenten den Satz zur Verfügung zwecks Anfertigung der Dissertations- bzw. Habilitationsexemplare.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz für Originalabhandlungen und kleinere Mitteilungen von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen.

Alle Korrekturen sind an

Professor Dr. Georg Melchers, (14b) Tübingen, Max Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 1,

alle die Zeitschrift betreffenden geschäftlichen Mitteilungen an den

Springer-Verlag, (17a) Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24,

zu senden.

Die geschäftsführenden Herausgeber:

G. Melchers

H. Stubbe

Berlin W 35

Reichpietschufer 20

Fernsprecher: 249251

Vertriebsvertretung im Ausland:

Lange, Maxwell & Springer Ltd., 242 Marylebone Road, London N.W. 1

Aus dem Botanischen Institut der Universität Köln.

ÜBER DIE ENTWICKLUNGSPHYSIOLOGISCHEN GRUNDLAGEN DER SELBSTSTERILITÄT BEI DER MUTANTE *DEFECTA* VON *PETUNIA**.

Von

LUDWIG EUE.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 17. Januar 1953.)

A. Einleitung.

Die Erscheinung der Selbststerilität ist im Pflanzenreich weit verbreitet (EAST 1940). Obwohl Pollen und Eizellen voll funktionstüchtig sind, kommt es nach Selbstbestäubung zu keiner Samenbildung. Die Pollenkörner können bei manchen selbststerilen Arten auf der Narbe nicht keimen. Bei anderen keimen sie zwar, die Pollenschläuche stellen jedoch ihr Wachstum vorzeitig ein. Die genetische Grundlage der Selbststerilität ist durch eine Reihe von *S*-Allelen gegeben.

Nachdem JOST (1907) und CORRENS (1913) mit ihren Theorien der Individualstoffe bzw. Linienstoffe eine physiologische Erklärung versucht hatten, stellte EAST (1929) die heute noch allein gültige „Immunitätstheorie“ auf. EAST sieht die Ursache für die Hemmung des Wachstums in einer *Reaktion zwischen Pollenschlauch und Griffelgewebe*, wenn beide das gleiche *S*-Allel tragen. Das Wachstum des Pollenschlauches wird durch ein Antigen-Antikörper-Präzipitat gehemmt und kommt schließlich zum Erliegen. Nach entwicklungsphysiologischen Versuchen an *Petunia* modifizierte STRAUB (1946/47) die Immunitätstheorie. Er kommt zu dem Schluß, daß ein *Wachstumsfaktor des Pollenschlauches* in der Immunitätsreaktion verbraucht wird.

Die Gültigkeit dieser Modifizierung der Immunitätstheorie läßt sich an Pflanzen prüfen, die sich in ihrer Wachstumsphysiologie unterscheiden, aber hinsichtlich ihrer Selbststerilitätsallele gleich sind. Hierzu bot sich in einer chlorophylldefekten Mutante von *Petunia nyctaginiiflora* (v. WETTSTEIN und PIRSCHLE, 1938) ein willkommenes Objekt, da Griffel und Pollen morphologisch und physiologisch von normalen Petunien stark abweichen.

B. Material und Methoden.

Material. Als Versuchsmaterial dienten Pflanzen von *Petunia nyctaginiiflora* und *P. hybrida*. Die chlorophylldefekte Mutante von *P. nyctaginiiflora* ist selbstfertil. Sie ist unter der Bezeichnung *Petunia dd* beschrieben (v. WETTSTEIN und PIRSCHLE, 1938). *D* ist vollkommen dominant über *d*. Das verwendete *d*-Material stammte aus Kulturen von Prof. F. v. WETTSTEIN. Daneben standen normale homozygot-selbststerile Klone ($T_3AF = S_1S_1$ und $T_2U = S_3S_3$) von *Petunia hybrida* aus Kulturen von Prof. J. STRAUB zur Verfügung. Die homozygot-selbststerilen Individuen waren durch Knospenselbstung erhalten worden,

* 1. Teil von: Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an der von WETTSTEINschen *dd*-Mutante von *Petunia nyctaginiiflora*, unter besonderer Berücksichtigung der Selbststerilität. Dissertation der Philosophischen Fakultät der Universität Köln, vorgelegt von LUDWIG EUE, 1952.

die bei *Petunia* wie bei *Nicotiana* gelingt. Die Genetik der Selbststerilität bei *Petunia* (HARLAND und ATTECK, 1933) gleicht in allen Einzelheiten der bei *Nicotiana* (EAST und MANGELSDORFF, 1926). Um zu selbststerilen Pflanzen zu kommen, galt es, die Selbststerilitätsallele einzukreuzen. In den selbstfertilen *d*-Pflanzen liegt das dem *S*-Allel entsprechende Allel *Sf* vor. Die genetische Konstitution der *dd*-Pflanzen ist demnach *ddSfSf*, die von normalen selbststerilen Pflanzen *DDS₁S₁*. Bei Kreuzung erhält man Bastarde mit *DdS₁Sf*. Sie sind selbstfertil, da die *Sf*-Pollen sich stets durchsetzen. Der *F₁*-Bastard wird nun mit dem homozygot-selbststerilen Elter rückgekreuzt. Um eine Hemmung der *S₁*-Schläuche auszu-schließen, wurde diese Kreuzung als Knospenbestäubung durchgeführt. Man kommt da-durch in der *F₂* zu 4 Gruppen von Nachkommen: *DDS₁S₁*, *DDS₁Sf*, *DdS₁S₁* und *DdS₁Sf*. Für die weiteren Untersuchungen interessieren nur noch die Gruppen *DDS₁S₁* und *DdS₁S₁*, die sämtlich selbststeril und äußerlich nicht voneinander zu unterscheiden sind. Nach Selbstbestäubung im Knospenstadium ergibt *DdS₁S₁* 25% selbststerile *dd*-Pflanzen (= *ddS₁S₁*). Die *DDS₁S₁*- und die so erhaltenen *ddS₁S₁*-Pflanzen wurden für die Unter-suchungen herangezogen.

Methoden. Die Wachstumsgeschwindigkeit der Pollenschläuche und ihr maximales Wachs-tum wurden nach den Angaben von STRAUB (1946, 1947) bestimmt. Die Versuchstemperatur betrug bei allen Versuchen $22^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$.

Bei den Griffelabschneideversuchen und der anschließenden Beobachtung des Pollen-schlauchwachstums *in vitro* (JOST 1907 und STRAUB 1946) fanden die Angaben von STRAUB Anwendung. 6 Std nach Bestäubung wurden die Griffel bei 6 mm abgeschnitten. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich die Schläuche kurz vor der Schnittfläche. Zur Messung nach 48 Std waren die in den Zuckertropfen hineingewachsenen Pollenschläuche vorsichtig mit Filtrierpapier zu strecken; dann wurde die Länge der Pollenschläuche von der Schnitt-fläche bis zur Spitze gemessen. Die Pollenkeimungsversuche erfolgten im Zuckertropfen. Die 10%ige Rohrzuckerlösung enthielt 0,01% Borsäure.

C. Versuchsergebnisse.

Pollenmessungen und Pollenkeimung. Das Pollenvolumen der *DD*-Pflanzen beträgt: $26546 \pm 645 \mu^3$, der *dd*-Pflanzen: $18860 \pm 709 \mu^3$. Der Pollen von *Dd*-Pflanzen ist mit $26330 \pm 580 \mu^3$ von dem der *DD*-Pflanzen nicht zu unter-scheiden.

Der Keimungsprozentsatz in Zucker-Borsäurelösung beträgt bei beiden Pollen-arten etwa 80%. Allerdings muß erwähnt werden, daß im *d*-Pollen etwas mehr taube Körner vorhanden sind. Um diesen Verhältnissen Rechnung zu tragen, wurde bei allen Versuchen reichlich bestäubt.

Hemmung der Pollenschläuche *in vivo*. Durch Präparation der selbstbestäubten Griffel wurde festgestellt, wo die Masse der Pollenschläuche ihr Wachstum ein-stellt. Der Hemmwert wird durch das Wegstück definiert, das von mindestens 3 Schläuchen durchwachsen wird. In Tabelle 1 sind die Werte für die 4 ver-schiedenen Kombinationsmöglichkeiten wiedergegeben. Bei allen Bestäubungen hatten Mutterpflanze und Pollenspender *stets das gleiche S-Allel*.

Tabelle 1. Hemmung des Pollenschlauchwachstums *in vivo*.

Art der Bestäubung	Hemmung bei mm	3 m	Anzahl	Griffellänge		
				Länge in mm	3 m	Anzahl
<i>DD</i> -Selbstung	14,9	$\pm 0,58$	70	27,74	$\pm 0,7$	100
<i>dd</i> -Selbstung	14,82	$\pm 0,53$	100	24,16	$\pm 0,96$	100
<i>DD</i> ♀ × <i>dd</i> ♂	13,86	$\pm 0,59$	100	27,74	$\pm 0,7$	100
<i>dd</i> ♀ × <i>DD</i> ♂	23,61	$\pm 0,87$	50	24,16	$\pm 0,96$	100

DD- und *dd*-Blüten unterscheiden sich im Hemmungsmechanismus nicht voneinander. Dagegen werden die *d*-Pollenschläuche in *DD*-Griffeln stärker gehemmt als in *dd*-Griffeln. Die Hemmung der *D*-Pollenschläuche in den *dd*-Griffeln ist äußerst schwach.

Zu der Kreuzung $dd \text{ ♀} \times DD \text{ ♂}$ ist noch zu bemerken, daß die Pollenschläuche in der Mehrzahl der Fälle das Ende der Griffel, d. h. die Fruchtknoten erreichten. Nur bei besonders langen Griffeln waren ihre Enden noch im Griffelgewebe zu finden. Um einen Zahlenwert angeben zu können, mußten die Griffellängen, bei denen die Pollenschläuche durchwuchsen, und die Schlauchlängen sichtbar gehemmter Schläuche zusammengekommen werden. Zu Vergleichszwecken wurden überall noch die Griffellängen bestimmt.

Bestimmung des maximalen Pollenschlauchwachstums. Die Bestimmung des maximalen Pollenschlauchwachstums erfolgte mit Hilfe von Griffelpfropfungen. Um für *d*- und *D*-Pollen gleiche Bedingungen zu schaffen, wurde in beiden Fällen mit Griffeln des gleichen Klons gearbeitet. Pollen mit dS_1 bzw. solcher mit DS_1 wurde auf Narben von DDS_3S_3 -Griffeln aufgetragen. Diese waren auf DDS_3S_3 -Griffel aufgepfropft. Hierbei ergaben sich folgende Werte: DS_1 -Pollen = $35,96 \pm 1,79$ mm; dS_1 -Pollen = $32,32 \pm 1,43$ mm. Es ergibt sich also, daß beide Pollensorten nicht nur durch ihre Größe, sondern auch durch verschiedenes maximales Wachstum bei Fremdung (in vivo) zu unterscheiden sind.

Wachstumsgeschwindigkeit der Pollenschläuche. Zur Bestimmung der Wachstumsgeschwindigkeit wurde zu verschiedenen Zeiten nach der Bestäubung festgestellt, wo sich die Spitzen der längsten Pollenschläuche befinden. Für jeden Zeitpunkt erfolgten 16 Einzelbestimmungen. Die Pollenschlauchlängen werden gegen die Zeit aufgetragen. Die Steilheit der Kurven ist das Maß für die Wachstumsgeschwindigkeit (Abb. 1).

Die Werte für *DD*-Pflanzen decken sich mit den von STRAUB (1946) ermittelten. Zwischen *D*- und *d*-Pollenschläuchen ist bei der Selbstung ($DDS_1S_1 \times DDS_1S_1$ bzw. $ddS_1S_1 \times ddS_1S_1$) kein Unterschied. Bei der Fremdung ($DDS_1S_1 \times DDS_3S_3$ bzw. $ddS_1S_1 \times ddS_3S_3$) bleiben die *d*-Schläuche im Wachstum zurück.

Griffelabschneideversuche und Pollenschlauchwachstum in vitro. Das Abschneiden der Griffel erfolgte bei 6 mm. Bei diesem Narbenabstand macht sich die Wirkung der *S*-Allele nach Selbstbestäubung noch nicht bemerkbar. Dies geht aus den Kurven für die Wachstumsgeschwindigkeit und aus den Versuchen von STRAUB (1947) hervor. Nach dem Abschneiden der Griffel können die Pollenschläuche in dem dargebotenen Zuckertropfen weiterwachsen. Haben sie ihr Wachstum beendet, so lassen sich die Schlauchlängen bestimmen. Die Messungen

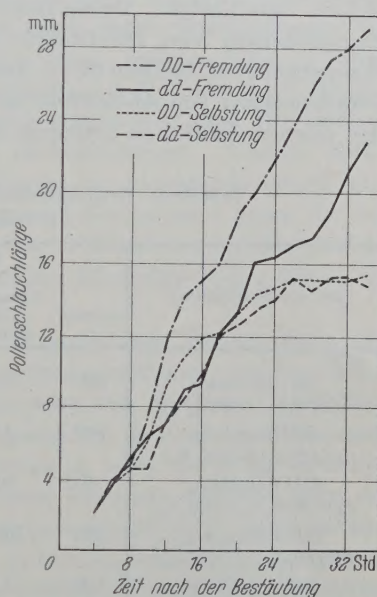


Abb. 1. Die Wachstumsgeschwindigkeit der Pollenschläuche bei Selbstung und Fremdung in normalen und *defecta*-Pflanzen.

wurden in zwei aufeinanderfolgenden Jahren durchgeführt und die Ergebnisse in Tabelle 2 zusammengestellt.

In einer gesonderten Spalte sind die Ausfälle vermerkt. Als solche wurden diejenigen Griffel gewertet, bei denen keine Pollenschläuche herausgewachsen oder bei denen die ausgewachsenen Schläuche sofort geplatzt waren.

DD- und *dd*-Selbstungen sind klar voneinander zu unterscheiden (9,88 gegen 3,7). Das gleiche gilt für die entsprechenden Fremdungen (10,78 gegen 4,04). Die Kreuzbestäubungen nehmen zwischen beiden eine Mittelstellung ein; ihre Wachstumswerte sind sowohl von den *DD*- als auch von den *dd*-Selbstungen gesichert verschieden. Bemerkenswert scheint, daß die *d*-Pollenschläuche nach Durchwachsen von *DD*-Griffeln eine größere Weite erreichen (6,3) als nach Wachstum in *dd*-Griffeln (3,7). Andererseits vermögen die *D*-Pollenschläuche nach Durchwachsen von *dd*-Griffeln bei weitem nicht die Längen wie nach Passieren der eigenen Griffel zu erlangen (5,78 gegen 9,88).

Tabelle 2. Griffelabschneideversuche und Pollenschlauchwachstum *in vitro*.
1 Teilstrich = 0,475 mm

Art der Bestäubung	1950			1951			Ausfälle %
	Anzahl	Länge in Teilstrichen	3 m	Anzahl	Länge in Teilstrichen	3 m	
<i>dd</i> -Selbstung (<i>ddS</i> ₁ <i>S</i> ₁ × <i>ddS</i> ₁ <i>S</i> ₁)	100	3,7	± 0,27	250	3,5	± 0,23	35
<i>dd</i> -Fremdung (<i>ddS</i> ₁ <i>S</i> ₁ × <i>ddS</i> ₃ <i>S</i> ₃)	100	4,04	± 0,35	—	—	—	28
<i>DD</i> -Selbstung (<i>DDS</i> ₁ <i>S</i> ₁ × <i>DDS</i> ₁ <i>S</i> ₁)	50	9,88	± 0,84	100	10,07	± 0,63	8
<i>DD</i> -Fremdung (<i>DDS</i> ₁ <i>S</i> ₁ × <i>DDS</i> ₃ <i>S</i> ₃)	100	10,78	± 0,77	—	—	—	5
<i>dd</i> ♀ × <i>DD</i> ♂ (<i>ddS</i> ₁ <i>S</i> ₁ × <i>DDS</i> ₁ <i>S</i> ₁)	100	5,78	± 0,42	150	5,4	± 0,53	30
<i>DD</i> ♀ × <i>dd</i> ♂ (<i>DDS</i> ₁ <i>S</i> ₁ × <i>ddS</i> ₁ <i>S</i> ₁)	100	6,3	± 0,81	250	5,21	± 0,45	20

Die dargestellten Versuche beweisen, daß die Wirkung der *S*-Allele sowohl durch die Pollen wie die Griffel Eigenschaften der *DD*- bzw. *dd*-Pflanzen verändert wird.

D. Diskussion.

Im Alter von etwa 8—12 Wochen beginnt die *defecta*-Mutante von *Petunia* die Wirkung des *d*-Gens zu zeigen: Die Blätter vergilben, die Pflanzen wachsen schwächlich, die neu entstehenden Blätter werden wesentlich kleiner ausgebildet und auch die sich bildenden Blüten sind kleiner als normal (s. hierzu v. WETTSTEIN und PIRSCHLE 1938). Für unsere Fragestellung war von besonderem Interesse, daß die *dd*-Griffel um etwa 3,5 mm kleiner sind als die *DD*-Griffel und das Volumen des *d*-Pollens nur etwa $\frac{2}{3}$ des *D*-Pollenvolumens ausmacht. Vergleicht man die Selbststerilitätsreaktion an *DD*-Pflanzen mit der von *dd*-Pflanzen, wobei beide das gleiche Selbststerilitätsgen enthalten, so erkennt man, daß die Wirkung des *S*-Gens vom *D*- und *d*-Gen beeinflußt wird. Zwar können *d*-Pollenschläuche auf *dd*-Griffeln gleich weit wachsen wie *D*-Schläuche auf *DD*-Griffeln,

aber die *d*-Schläuche werden auf *DD*-Griffeln stärker gehemmt als auf *dd*-Griffeln und *D*-Pollenschläuche vermögen die *dd*-Griffel ganz zu passieren. Die Wachstums hemmung der *dd*-Pflanzen kommt also auch im Pollen und Griffel zum Ausdruck. Die Hemmreaktion zwischen Pollenschlauch und Griffelgewebe ist eng mit den Wachstumsverhältnissen der entsprechenden Organe bzw. Zellen verknüpft. Was läßt sich daraus über die Natur der Wirkung vom *S*-Gen aussagen? Es ist unwahrscheinlich, daß die stärkere Hemmung von *d*-Pollenschläuchen in *DD*-Griffeln, wie sie nach Selbstbestäubung zutage tritt, die Folge einer stärkeren Wirkung des betreffenden *S*-Gens im *d*-Pollen ist. Wahrscheinlicher ist, daß die Schläuche der kleineren *d*-Pollen deshalb stärker gehemmt werden, weil sie selbst weniger wachstumsfähig sind. Diese Deutung wird durch Bestimmungen des maximalen Pollenschlauchwachstums nach Fremdung, welches beim *d*-Pollen kleiner ist als das maximale Pollenschlauchwachstum von *D*-Pollen nach gleicher Fremdung gestützt. Außerdem spricht für sie die Beobachtung der Wachstumsgeschwindigkeiten vergleichbarer *DD*- und *dd*-Fremdungen. Unsere Beobachtungen über das Wachstum der Pollenschläuche im Abschneideversuch sind zwar nicht so eindeutig, aber auch sie sprechen mindestens nicht gegen die Anschauung, daß die *d*-Schläuche wegen des geringeren Volumens von *d*-Pollen und der damit verbundenen kleineren Menge des notwendigen Wachstumsstoffes stärker gehemmt werden.

Die dargestellten Versuche sind dadurch ausgezeichnet, daß in ihnen das gleiche *S*-Gen jeweils in verschiedenen großen aber funktionell sonst gleichen Zellen bzw. Organen wirkt, den *d*- bzw. *D*-Pollen einerseits, den *dd*- bzw. *DD*-Griffeln andererseits. So vermögen die Experimente besonders deutlich zu illustrieren, daß die Hemmung des Pollenschlauchwachstums in einer Reaktion zwischen Griffelgewebe und Pollenschlauch besteht. Unsere Versuche sprechen nicht dagegen, diese Reaktion als eine Immunitätsreaktion aufzufassen. Diese scheint aber nicht einfach darin zu bestehen, daß vom *S*₁-Gen ein spezifisches Antigen *A*₁ gebildet wird, das mit einem Antikörper *A*₂ des Griffels ein hemmendes Präzipitat bildet. Das Verhalten der *d*-Pollenschläuche dürfte vielmehr so aufzufassen sein, daß das *S*₁-Gen bei der Bildung eines spezifischen Wachstumsstoffes mitwirkt, der neben seiner Eigenschaft als Pollenschlauch-Wachstumsstoff Antigenfähigkeiten besitzt und bei Selbstung durch einen spezifischen Antikörper des Griffels außer Funktion gesetzt wird. Die dargestellten Versuche bei *dd*-Petunien können also die von STRAUB modifizierte Immunitätstheorie, die den Verbrauch eines Wachstumsstoffes zusätzlich postuliert, stützen. Die schwächere Hemmreaktion, die von den *dd*-Griffeln ausgeht, zeigt, daß es auch beim Antikörper auf die Quantität ankommt.

EHLERS (1951) schließt aus seinen Beobachtungen des Pollenschlauchwachstums *in vivo* und *in vitro*, daß der Griffel nur als Substrat für das Wachstum dient. Die notwendigen Wachstumsstoffe sollen allein aus dem Pollen stammen. Die *Petunia*-Versuche dagegen beweisen, daß die Art des Griffels maßgeblich die Wachstumsfähigkeit des Pollens beeinflusst. Es wird später zu zeigen sein, daß nicht nur Stoffe enzymatischer Natur dabei eine Rolle spielen, sondern daß der Pollenschlauch aus dem Griffel echte Nährsubstanz aufnimmt (LINSKENS, unveröffentlicht). Das Pollenschlauchwachstum kommt offenbar durch wechselseitige Wechselwirkungen zwischen Stoffen enzymatischer Natur und solchen

echter Nährfunktion zustande. Der Pollen dürfte die Hauptmenge der notwendigen Substanzen mitbringen, aber das Leitgewebe scheint als Stofflieferant ebenfalls beteiligt zu sein. Die Wirkung der *S*-Allele dürfte mit den Stoffwechselprozessen, die sich beim Pollenschlauchwachstum zwischen Pollen und Griffelgewebe abspielen, in Verbindung stehen.

Zusammenfassung.

Die selbstfertile Mutante *defecta* (= *dd*) besitzt kleinere Pollen und kürzere Griffel als die normalen Petunien. Durch Einkreuzen der *S*-Gene aus selbststerilen Linien in *dd*-Pflanzen gelingt es, selbststerile *dd*-Formen zu erhalten. Daraufhin läßt sich die Wirkung der gleichen *S*-Allele in verschiedenen großen Pollenkörnern bzw. unterschiedlichen Griffeln vergleichen. Es werden Messungen der Pollenschläuche nach Selbstbestäubungen des maximalen Pollenschlauchwachstums und der Schlauchlängen im Zuckertropfen nach Abschneiden der Griffel durchgeführt. Ein *d*-Pollenschlauch wird stärker gehemmt als ein *D*-Pollenschlauch mit dem gleichen *S*-Gen. *DS*₁-Pollenschläuche wachsen in *ddS*₁*S*₁-Griffeln häufig bis zum Fruchtknoten. Die Befunde lassen sich im Sinne der Immunitätstheorie am besten erklären, wenn man annimmt, daß Antigen und Antikörper, die unter der Wirkung des *S*-Gens im Pollenschlauch bzw. Griffel gebildet werden, Teile des Stoffsystems darstellen, das dem Pollenschlauchwachstum zugrunde liegt.

Ich danke meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. J. STRAUB, ergebenst für die Überlassung des Themas und des Pflanzenmaterials sowie für das stete Interesse, das er dem Fortgang der Arbeit widmete.

Literatur.

- CORRENS, C.: Selbststerilität und Individualstoffe. Biol. Zbl. **33**, 389—423 (1913). — EAST, E. M.: The reaction of the stigmatic tissue against pollentube growth in selfed selfsterile plants. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. **20**, 364—368 (1924). — Selfsterility. Bibliographica genetica **5**, 329—370 (1929). — Studies on selfsterility. The behaviour of crosses between selfsterile and selffertile plants. Genetics **17**, 175—202 (1932). — Norms of pollentube growth in incompatible matings of selfsterile plants. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. **20**, 225—230 (1934). — The distribution of selfsterility in the flowering plants. Proc. Amer. Philos. Soc. **82**, 449—518 (1940). — EAST, E. M., and A. J. MANGELSDORFF: Studies on selfsterility. VII. Heredity and selectiv pollen-tube growth. Genetics **11**, 466—481 (1926). — EHLERS, H.: Untersuchungen zur Ernährungsphysiologie der Pollenschläuche. Biol. Zbl. **70**, 432—451 (1951). — HARLAND, S. C., and O. S. ATTECK: The inheritance of selfsterility in *Petunia violacea*. Genetica ('s-Gravenhage) **15**, 89—102 (1933). — JOST, L.: Über die Selbststerilität einiger Blüten. Bot. Ztg **65**, 77—117 (1907). — PIRSCHLE, K., u. F. v. WETTSTEIN: Einige vorläufige Beobachtungen über die Wirkung verschiedener Lichtintensitäten und -qualitäten auf höhere Pflanzen bei konstanten Bedingungen. Biol. Zbl. **60**, 626—658 (1940). — STRAUB, J.: Zur Entwicklungsphysiologie der Selbststerilität von *Petunia*. Z. Naturforsch. **1**, 287—291 (1946). — Zur Entwicklungsphysiologie der Selbststerilität von *Petunia* II. Das Prinzip des Hemmstoffmechanismus. Z. Naturforsch. **2b**, 433—444 (1947). — WETTSTEIN, F. v., u. K. PIRSCHLE: Über die Wirkung heteroplastischer Pfropfungen und die Übertragung eines Gen-bedingten Stoffes durch Pfropfung bei *Petunia*. Biol. Zbl. **58**, 123—142 (1938).

Dr. LUDWIG EUE, Botanisches Institut, Köln-Riehl, Amsterdamer Straße 36.

Aus dem Botanischen Institut der Universität Köln.

CHLOROPHYLLBESTIMMUNGEN UND PFROPFVERSUCHE BEI DER *PETUNIA*-MUTANTE *DEFECTA**.

Von

LUDWIG EUE.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. Januar 1953.)

A. Einleitung.

In den Aussaaten von *Petunia nyctaginiflora* des Botanischen Gartens München-Nymphenburg trat 1935 eine chlorophylldefekte Mutante auf, die unter der Bezeichnung „*defecta*“ (*dd*) ausführlich beschrieben wurde (F. v. WETTSTEIN und K. PIRSCHLE, 1938). Die genetische Untersuchung ergab, daß ein einfaches Allelenpaar, *d-D*, vorliegt, wobei *D* vollkommen dominant über *d* ist.

dd-Pflanzen sind im Jugendstadium von *DD*-Pflanzen nicht zu unterscheiden. Wenn das Schossen einsetzt, entwickeln sich *dd*-Pflanzen aber deutlich schwächer, sind weniger verzweigt und tragen kleinere, leicht nach oben gewölbte, löffelförmige Blätter. Auch die Blüten sind viel kleiner. Das auffälligste Merkmal, das *dd*- und *DD*-Pflanzen unterscheidet, ist jedoch die Blattfärbung, die auf starke Chlorophylldefekte bei *dd* schließen läßt. Dieses Merkmal tritt ebenfalls erst beim Schossen der Pflanzen in Erscheinung. Mit fortschreitendem Alter wird es immer deutlicher.

Das geschwächte Wachstum der Pflanzen, das wohl auf die Chlorophyllverminderung zurückzuführen ist, interessierte im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Pollenschlauch-Wachstumsverhältnisse im Griffel solcher Pflanzen. Daher wurde versucht, den Chlorophyllgehalt von *dd*-Pflanzen zu bestimmen, zumal noch keine Angaben über das Verhalten der Chloroplasten in dieser *Petunia*-Mutante vorlagen.

Nach PIRSCHLE (1938, 1939) erfolgt eine Übertragung des *defecta*-Charakters durch Pfropfungen. Da die schon erwähnten Wachstumsversuche an den Pollenschläuchen von *defecta*-Pflanzen einen deutlichen Einfluß des *d*-Gens ergeben hatten, erschien es sinnvoll, festzustellen, ob auch in dem hier verwendeten *dd*-Material die Wirkung des *d*-Gens in *DD*-Pfropfreisern auftritt.

B. Methoden.

Bei den im Laufe der Untersuchungen durchgeführten Pfropfversuchen fanden stets Reiser gleichen Alters Verwendung. Dasselbe gilt für die benutzten Unterlagen. Zum Zeitpunkt der Pfropfung hatten die Pflanzen eine Höhe von 10–12 cm. Die Unterlagen waren etwa 7–8 cm oberhalb des Wurzelansatzes dekapitiert und eingeschlitzt, worauf die 3–4 cm langen Reiser, die keilförmig zugespitzt waren, in den Schlitz eingelassen wurden. Nach Anlegen eines Bastverbandes um die Pfropfstelle gelangten die Pflanzen bis zur Verwachsung

* 2. Teil von: Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an der von WETTSTEINschen *dd*-Mutante von *Petunia nyctaginiflora*, unter besonderer Berücksichtigung der Selbststerilität. Dissertation der Philosophischen Fakultät der Universität Köln, vorgelegt von LUDWIG EUE, 1952.

von Reis und Unterlagen in eine wasserdampfgesättigte Atmosphäre, die eine Temperatur von 18° C aufwies. Anschließend erfolgte die Kultivierung im Gewächshaus zusammen mit den unbehandelten Pflanzen. Nach etwa 4 Wochen wurden die Bastverbände gelöst und die nach der Dekapitierung reichlich auftretenden Seitentriebe der Unterlage entfernt.

Um ein Bild von dem Verhältnis der Farbstoffkomponenten in den Blättern der vergleichbaren *DD*- und *dd*-Petunien zu bekommen, wurden Chlorophyllbestimmungen mit Hilfe der von TSWETT (1907) begründeten und später von WILLSTÄTTER (1913) und seiner Schule ausgebauten chromatographischen Adsorptionsanalyse ausgeführt. Es konnte im wesentlichen nach der von WINTERSTEIN und STEIN (1933) angegebenen Methode verfahren werden, doch wählten wir als Adsorptionsmittel Stärke, um bei der Elution auf den leichtflüchtigen Äther verzichten zu können (STROTT 1936; WENDEL 1950). Nach der Trennung der Komponenten an der Stärkesäule erfolgte Elution der einzelnen Komponenten in 20 cm³ Methanol und das an Aluminium adsorbierte Karotin wurde mit dem des Filtrates vereinigt. Zum Vergleich der dekantierten Farbstofflösungen diente das Kolorimeter nach DUBOSQUE. Als Vergleichslösung für die grünen Komponenten fand eine 4,1%ige Nickelsulfat-Lösung Verwendung, für die gelben eine 0,15%ige Kaliumchromat-Lösung. Für jede Farbstoffkomponente wurden 20 Einzelmessungen gemacht. Da die Kontrolllösungen und die Lösungen der Blattfarbstoffe in den vorliegenden Konzentrationen dem LAMBERT-BEERSchen Gesetz gehorchen, konnten aus den gemessenen Schichtdicken die den Farbstofflösungen entsprechenden Konzentrationen der Kontrollsubstanz errechnet werden. Man kommt so zu Prozentwerten, welche die Konzentrationen von Nickelsulfat- bzw. Kaliumchromat-Lösungen angeben und erhält für die Chlorophyllkomponenten relative Werte, die aber die Möglichkeit zum Vergleich zwischen normalen und defekten Pflanzen bieten und so den gestellten Anforderungen genügen.

Die Untersuchung der Anatomie der Blätter erfolgte an Handschnitten. Die Zeichnungen wurden mit dem Zeißschen Zeichenprisma angefertigt. Die Untersuchung der Chloroplasten erfolgte im Ultraviolettmikroskop bei 900facher Vergrößerung sowie im normalen Lichtmikroskop.

C. Versuchsergebnisse.

1. *Chlorophyllbestimmungen bei DD- und dd-Pflanzen.* Jungpflanzen wurden im Alter von 9 Wochen zu den Chlorophyllbestimmungen herangezogen. Zu diesem Zeitpunkt zeigen die *dd*-Pflanzen noch keinerlei Vergilbungserscheinungen. Die ältesten Blätter von *DD*- und *dd*-Pflanzen bildeten dabei das Ausgangsmaterial für die Farbstoffbestimmungen. An den erwachsenen Pflanzen im Alter von etwa 6 Monaten wurden Blätter mittlerer Stengelregionen ausgewählt. In dieser Sproßhöhe sind die Blätter der *defecta*-Pflanzen etwa zur Hälfte vergilbt. Tiefer unten sind sie vollkommen verbläßt. Die Farbstoffanteile völlig vergilbter Blätter waren mit der beschriebenen Methode nicht mehr zu erfassen, so daß auf diese Bestimmung verzichtet werden mußte.

In jeder Gruppe wurden 20 Bestimmungen vorgenommen, die einzeln auf die Konzentration der Vergleichssubstanz umgerechnet wurden. In der nachfolgenden Tabelle 1 sind die Mittelwerte der vier Komponenten mit den dreifachen mittleren Fehlern eingetragen.

In ihrer Farbstärke entsprechen die gewonnenen Farbstofflösungen, ausgehend von 1 g Frischgewicht, den in der Tabelle angeführten Konzentrationen der Kontrollsubstanzen, d. h. die aus Blättern normaler Pflanzen gewonnene Chlorophyll-a-Lösung würde in ihrer Farbstärke einer Nickelsulfatlösung von 16,39 % entsprechen, während dieselbe Lösung aus defekten Blättern nur derjenigen von 5,43 % entspräche.

Bei erwachsenen, normalen Pflanzen ist der Gehalt an allen 4 Komponenten etwa dreimal größer als bei den defekten Pflanzen. In der Jugend ist die Farbstoffmenge, auch bezugnehmend auf die einzelnen Komponenten, für *DD*- und *dd*-Pflanzen gleich (Tabelle 2).

Tabelle 1. Verteilung der Farbstoffkomponenten in jungen und ausgewachsenen *DD*- bzw. *dd*-*Petunien*.

Pflanze	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Xanthophyll	Karotin
<i>Petunia DD</i> (ausgewachsen)	16,39	15,48	0,1893	0,2061
% der vergl. Substanz ± 3 m	± 0,03	± 0,05	± 0,0045	± 0,0325
<i>Petunia dd</i> (ausgewachsen)	5,43	5,51	0,06669	0,06431
% der vergl. Substanz ± 3 m	± 0,03	± 0,03	± 0,0029	± 0,0024
<i>Petunia DD</i> (junge Pflanze)	9,94	9,83	0,0104	0,2025
% der vergl. Substanz ± 3 m	± 0,035	± 0,06	± 0,0006	± 0,0018
<i>Petunia dd</i> (junge Pflanze)	9,896	9,88	0,0105	0,213
% der vergl. Substanz ± 3 m	± 0,11	± 0,1	± 0,0004	± 0,01047

Tabelle 2. Verhältnis der einzelnen Farbstoffkomponenten bei normalen und defecta-Pflanzen.

Komponentenverhältnisse	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>x/x</i>	<i>K/K</i>	grün/grün	gelb/gelb	<i>DD/dd</i>
<i>DD:dd</i> (ausgewachsen)	3,02	2,81	2,84	3,10	2,91	3,02	2,91
<i>DD:dd</i> (junge). . . .	0,996	1,01	1,01	0,94	1,00	1,05	1,00

Setzt man die grünen Komponenten zueinander ins Verhältnis, so erkennt man (Tabelle 3), daß es in allen 4 Gruppen gleich ist. Bei den gelben Komponenten unterscheiden sich jedoch junge und erwachsene Pflanzen deutlich. Bei Pflanzen gleichen Alters ist das Verhältnis der Komponenten zwar gleich, aber die jungen Pflanzen besitzen mehr Karotin als die ausgewachsenen. Es erscheint bemerkenswert, daß trotzdem das Verhältnis der grünen zu den gelben Farbstoffen ($a + b/x + K$) in allen 4 Gruppen gleich ist.

2. Untersuchung des Chloroplastenzerfalls. Um festzustellen, wie sich der Farbstoffschwund

Tabelle 3. Verhältnis der einzelnen Farbstoffkomponenten zueinander.

Pflanzen	Komponentenverhältnisse		
	<i>a:b</i>	<i>x:K</i>	$a+b:x+K$
<i>Petunia DD</i> (ausgewachsen). . .	1,06	0,92	86,6
<i>Petunia dd</i> (ausgewachsen). . .	0,99	1,04	83,5
<i>Petunia DD</i> (junge Pflanzen). . .	1,02	0,05	88,5
<i>Petunia dd</i> (junge Pflanzen). . .	1,01	0,05	92,8

an den Chloroplasten auswirkt, wurden Handschnitte durch normale und durch grüne Blätter von *defecta*-Pflanzen angefertigt. Sie lassen keine Unterschiede im Zellinhalt erkennen (Abb. 1 und 2), ganz im Gegensatz zu den vergilbten Blatteilen (Abb. 3). Von einheitlich gebauten Chloroplasten ist bei den letzteren nichts mehr zu sehen, sondern es finden sich nur noch Körnerreste. In der Übergangszone von grünen zu gelben Spreitenteilen trifft man Zellen mit normalen neben solchen mit mehr oder weniger abgebauten Chloroplasten an.

Der Zerfall beruht offenbar zunächst auf einem *Stromaschwund*. Erst im weiteren Verlauf der Vergilbung findet dann ein Abbau der zunächst noch grünen Zerfallsprodukte statt. Aus dem mikroskopischen Beobachtungen im normalen Lichtmikroskop kann man schließen, daß der Farbstoffverlust wahrscheinlich

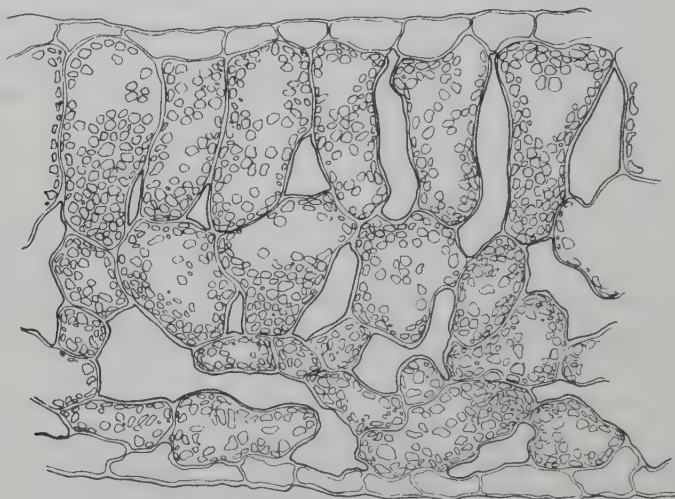


Abb. 1. Querschnitt durch ein Blatt einer normalen Pflanze.

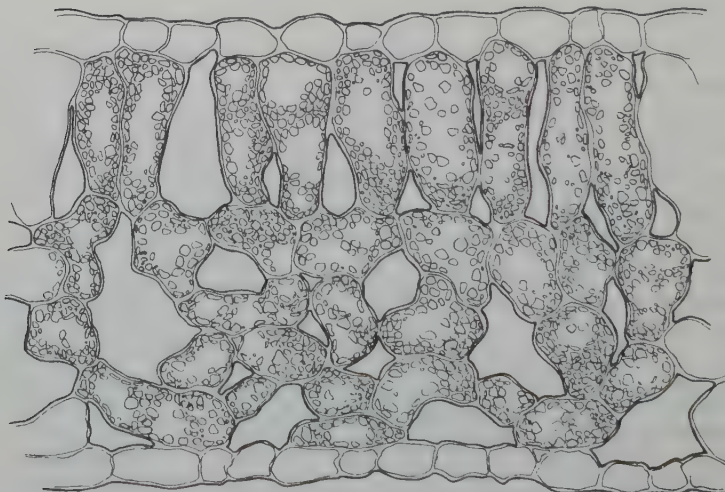


Abb. 2. Querschnitt durch ein grünes Blatt einer *defecta*-Pflanze.

sekundär erfolgt. Ganz deutlich wird dies aber erst durch Beobachtungen im Fluoreszenzmikroskop. Die Chloroplasten aus den *grünen* Blatteilen der normalen und defekten Pflanzen sind in ihm nicht zu unterscheiden. Bei beginnendem Zerfall zeigen die Zerfallsprodukte zunächst noch ganz normale Fluoreszenz. Mit zunehmender Vergilbung fluoreszieren dann immer weniger Teilchen in den einzelnen Zellen der *dd*-Blätter.

Bemerkenswert scheint, daß die Zellen in der Umgebung der Blattspurbündel zuletzt betroffen werden, und daß die Chloroplasten der Schließzellen auch in den vollkommen gelben Blatteilen normales Aussehen zeigen.

3. *Pfropfversuche.* Nach PIRSCHLE (1938) soll die Übertragung des *defecta*-Charakters durch Pfropfung gelingen, unabhängig davon, ob die *defecta*-Pflanze das Reis oder die Unterlage stellt. Die hier benutzten *dd*-Pflanzen waren direkte Nachkommen der von PIRSCHLE verwendeten (= *Petunia nyctagini-flora*), doch fehlten leider die entsprechenden *DD*-Pflanzen. Wir benutzten für die Pfropfungen als *DD*-Pflanzen den Klon W166K aus Kulturen von STRAUB, sowie normale Pflanzen aus den an anderer Stelle beschriebenen Kreuzungen (EUE, 1953) (= *Petunia hybrida*).

Diese Pflanzen können formal als *DD*-Pflanzen bezeichnet werden, da ihr Bastard mit *dd* in der zweiten Generation aufspaltet, wobei $\frac{1}{4}$ der Pflanzen *defecta*-Charakter trägt. Weder bei der Verwendung von *dd* als Reis (*dd/DD*) noch bei der Verwendung als Unterlage (*DD/dd*) konnte eine Übertragung des *dd*-Charakters auf *DD* beobachtet werden. (Zur Kontrolle waren die Pfropfungen von *DD*-Reisern auf *DD*-Unter-

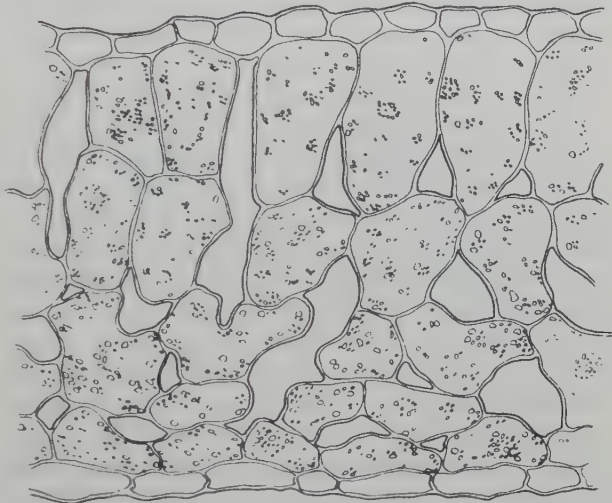


Abb. 3. Querschnitt durch ein vergilbtes Blatt einer *defecta*-Pflanze.

lagen [*DD/DD*] ausgeführt). Möglicherweise war daran der Umstand schuld, daß wir als *DD*-Pflanzen solche von *Petunia hybrida* verwendet hatten. Um diesen Faktor auszuschalten, wurde im folgenden Jahr mit *Petunia nyctagini-flora*, *P. violacea* und *P. hybrida* verschiedener Herkunft gearbeitet. Aussaat und Pfropfung erfolgten jahreszeitlich zu den gleichen Terminen, wie sie von PIRSCHLE angegeben sind. Auch hier wurden wieder beide Pfropfungsarten ausgeführt (*dd/DD* und *DD/dd*). Als Kontrollen dienten die Pfropfungen *dd/dd* und *DD/DD*. Auch diese Versuche ergaben in keinem Falle eine Übertragung des *dd*-Charakters auf *DD*-Teile.

dd-Reiser auf *DD*-Unterlagen zeigten zwar ein wesentlich besseres Wachstum als *dd*-Pflanzen und die Verzweigung war im allgemeinen reicher, aber die Reiser behielten im übrigen ihren typischen *dd*-Charakter bei. Eine Übertragung des *dd*-Charakters auf die Unterlage erfolgte nicht. Die Vergilbung der Blätter der Unterlage (*DD*-Pflanzen) verlief in der gleichen Weise, wie es von der normalen Altersvergilbung bekannt ist.

Die *DD*-Reiser auf *dd*-Unterlagen zeigten nicht die gewohnten reichen Verzweigungen. Sie wuchsen anormal stark in die Länge, blühten und trieben erst dann neue Seitensprosse. Blüten und Blätter wiesen aber keine *dd*-Merkmale auf. Das frühzeitige Vergilben der Blätter des Reises darf nicht als eine Wirkung der Unterlage bezeichnet werden, denn es tritt gelegentlich auch bei *DD*-Reisern auf *DD*-Unterlagen ein.

Auch die Pfropfungen mit anderen Gattungen der Solanaceen ergaben nicht den nach PIRSCHLE zu erwartenden Erfolg. Es soll hier nicht im einzelnen auf die Befunde eingegangen werden. Erwähnenswert ist jedoch, daß die *dd-Reiser* auf *Nicotiana tabacum* ein üppiges Wachstum zeigen, dabei aber ihre typische *dd*-Merkmalsprägung behalten. Mit Hilfe dieser Tatsache ließ sich die Möglichkeit ausschließen, daß die physiologische Schwäche unserer *dd*-Unterlagen — diese trugen wenig Blätter, hervorgerufen durch relativ schlechte Gewächshausbedingungen — eine Übertragung des *dd*-Charakters auf *DD*-Gewebe verhindere. Um zu kräftigeren Unterlagen zu kommen, wurden *dd-Reiser* auf *Nicotiana tabacum* gepfropft. Nachdem die Reiser in vorzüglichem Wuchs waren, wurden auf diese *dd*-Sprosse *DD-Reiser* aufgepfropft. Aber auch unter diesen Bedingungen war keine Übertragung des *dd*-Charakters auf *DD*-Sproßteile zu beobachten.

Zusammenfassung.

1. Das *defecta*-Gen von *Petunia* bewirkt neben anderem ein Vergilben der Blätter von *dd*-Pflanzen, wobei der Chlorophyllschwund mit dem Beginn des Schossens der Pflanzen besonders deutlich wird. Chlorophyllbestimmungen ergeben, daß 2 Monate alte, noch grüne *dd*-Pflanzen den gleichen Farbstoffgehalt an den 4 Pigmentkomponenten besitzen wie *DD*-Pflanzen. Im Alter von 6 Monaten weisen alle 4 Komponenten bei *dd*-Individuen nur noch $\frac{1}{3}$ des Normalgehaltes auf.
2. Fluoreszenzoptische Untersuchungen zeigen, daß die Genwirkung zunächst einen Chloroplastenzerfall hervorruft. Erst hernach schwinden die Farbstoffe.
3. Es gelang nicht, die von F. v. WETTSTEIN und K. PIRSCHLE beschriebene und durch klare Fotos belegte Übertragung des *defecta*-Charakters auf *DD-Reiser* zu reproduzieren. Eine verständliche Erklärung des Befundes steht noch aus.
4. Die hemmende Wirkung des *defecta*-Gens auf die Wachstumsintensität kann durch geeignete Pfropfunterlagen stark vermindert werden.

Literatur.

- DÜVEL, D., u. W. MEWIS jr.: Zur Fluoreszenz der Granen in Chloroplasten. *Naturwiss.* **39**, 23 (1952). — EUE, L.: Über die entwicklungsphysiologischen Grundlagen der Selbststerilität bei der Mutante *defecta* von *Petunia*. *Z. Vererbungslehre* **1953**. — FREY-WISLING, A.: Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. *Protoplasma* monographien, Bd. 15. Berlin 1938. — Der Aufbau der Chlorophyllkörner. (Sammelreferat.) *Protoplasma* (Berl.) **29**, 279—299 (1938). — PIRSCHLE, K.: Weitere Pfropfversuche mit Petunien. *Naturwiss.* **26**, 629—630 (1938). — Weitere Untersuchungen über die Auswirkung eines genabhängigen Wirkstoffes bei *Petunia* in einem Pfropfversuch auf älteren Unterlagen. *Z. Vererbungslehre* **74**, 512—534 (1939). — Ist der „*d*-Stoff“ von *Petunia* artspezifisch? *Biol. Zbl.* **60**, 318—326 (1940). — STROTT, A.: Der Einfluß der Umweltbedingungen auf die Ausbildung der Chloroplastenfarbstoffe. *Jb. wiss. Bot.* **86**, 1—32 (1938). — STRUGGER, S.: Über den Bau der Plastiden und Chloroplasten. *Naturwiss.* **37**, 166—167 (1950). — TSWETT, M.: Über die Spektrophotometrie der Chlorophylle und die Energetik des Chlorophylls. *Ber. dtsch. bot. Ges.* **25** (1907). *Zit. STROTT* 1938. — WENDEL, K.: Beiträge zur chromatographischen Analyse von Chlorophylllösungen und deren kolorimetrische und photometrische Messung. *Planta* (Berl.) **37**, 604—611 (1950). — WETTSTEIN, F. v., u. K. PIRSCHLE, K.: Über die Wirkung heteroplastischer Pfropfungen und die Übertragung eines Genbedingten Stoffes durch Pfropfung bei *Petunia*. *Biol. Zbl.* **58**, 123—142 (1938). — WINTERSTEIN, A., u. G. STEIN: Chlorophyll-Bestimmung der Mengenverhältnisse der Chlorophylle in grünen Blättern. II. *Mitt. Z. physiol. Chem.* **220**, 263—277 (1933).

Dr. LUDWIG EUE, Botanisches Institut der Universität Köln-Rieh, Amsterdamer Str. 36.

Department of Genetics, University of California, Davis, California, U. S. A.

THE BEADEX LOCUS IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*:
GENETIC ANALYSIS OF THE MUTANT Bx^{r49k} .

By

M. M. GREEN.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Juni 1953.)

A. Introduction.

In previous reports, it has been demonstrated that fundamentally different mutants exist at the sex-linked Beadex wing (Bx) locus in *Drosophila melanogaster*. Crossing over was shown to occur between Bx^1 and Bx^r , dominant and recessive to wild-type respectively, but not in ♀♀ homozygous Bx^1 or homozygous Bx^r (GREEN 1953). From the analysis of the exceptional crossover products derived from ♀♀ Bx^1/Bx^r it was concluded that Bx^r is associated with a tandem duplication involving the wild-type loci of small eye (sy), Beadex and fused wing veins (fu), as well as one or more unknown gene loci to the right of the fu locus, designated as x . Accordingly the precise genotype of Bx^r may be written as follows: $sy^+ Bx^+ fu^+ x sy^+ Bx^+ fu^+ x$ (GREEN 1952). The dominant mutant Bx^1 can be interpreted as having arisen from Bx^+ by "point" mutation and is not associated with a duplication or other chromosomal aberration (GREEN 1952, 1953).

On the basis of these observations it has been postulated that mutations at the Beadex locus involve two distinct mechanisms, dominant Beadex mutants arising by gene mutation and recessive Beadex mutants arising as a consequence of tandem duplication of the Bx^+ locus.

Studies involving the dominant mutant Bx^2 show that crossing over also occurs in Bx^2/Bx^r ♀♀, resulting in exceptional crossover types identical to those recovered from ♀♀ Bx^1/Bx^r . However, no exceptional crossovers have been recovered from ♀♀ Bx^1/Bx^2 or Bx^2/Bx^2 . Accordingly, it is reasonable to conclude that Bx^2 like Bx^1 arose by gene mutation.

Of significance to a theory that separate mechanisms produce dominant and recessive Beadex mutants is an analysis of additional, independently occurring recessive Beadex mutants. A number of pertinent questions can be answered from such an analysis. Are all recessive Beadex mutants associated with tandem duplications? If so, are the duplications genetically identical? Unfortunately, either the frequency of recessive Beadex mutants is very low or they are rarely detected. BRIDGES and BREHME (1944) list two recessive mutants, one of which, Bx^r , has been analyzed (GREEN, loc. cit.) and the other, Bx^{in} , no longer available. Included among the new mutants described as occurring in *D. melanogaster* since 1944 and reported in "The Drosophila Information Service" is one additional recessive Beadex mutant, Bx^{r49k} . The genetic analysis of this mutant will be the subject of this report*. For simplicity, Bx^{r49k} will be referred to here as Bx^{r2} .

* The author wishes to thank Dr. Ö. STRÖMNAES for his kindness in making Bx^{r49k} available for study.

B. Materials and Methods.

The mutant Bx^{r2} is of spontaneous origin. Phenotypically it is inseparable from Bx^r , and characteristically the wing phenotype is manifested in excision of the inner margins of the wings. As in the case of Bx^r , the penetrance of the homozygous Bx^{r2} phenotype is not complete and frequent overlaps of wildtype are encountered. In order to minimize phenotypic overlaps, all experiments were performed at a temperature of 23–24° C and care was taken to prevent overcrowding of the developing flies. Despite these precautions, an appreciable number of Bx^{r2} flies wild-type in wing phenotype occurred. Therefore it was necessary to progeny test all phenotypically wild-type individuals. To reduce the number of progeny tests to a minimum, the crossing over data have been based on the ♂ progeny only.

In the initial crossing over experiments to be reported here the following sex-linked mutants, occurring at the designated map positions according to BRIDGES and BREHME, were utilized: forked bristles (*f*) 56.7; Beadex wing (Bx^1), 59.4; carnation eye color (*car*) 62.5. In later experiments the mutants small eye (*sy*), 59.2 and fused veins (*fu*), 59.5 were used. With the exception of Bx^1 all mutants listed are recessive to wild-type. Gene loci are assumed to be wild-type unless otherwise indicated.

C. Experimental Results.

1. Crossing over between Bx^{r2} and Bx^1 .

If it is assumed on the basis of their phenotypes and dominance relationships that Bx^r and Bx^{r2} are similar tandem duplications, it can be predicted on the basis of the results reported for Bx^r that crossing over will occur between Bx^{r2} and Bx^1 . Accordingly ♀♀ of the genotype $f Bx^1 car/Bx^{r2}$ were constituted and their progeny examined. The results of this test are listed in table 1. It may be

Table 1. Occurrence of exceptional ♂ progeny associated with crossing over in ♀♀ $f Bx^1 car/Bx^{r2}$.

Total ♂ Progeny	Exceptional ♂ Progeny			
	$f Bx^+$	$Bx^+ Bx^1 car$	$Bx^+ car$	$f Bx^1 Bx^+$
3601	5	7	2	0
2400	*	11	*	1

* Tests for detection not made.

than either Bx^{r2} or Bx^1 and similarly were either *f* or *car*. These ♂♂ are designated as $f Bx^1 Bx^+$ and $Bx^+ Bx^1 car$. The wing phenotypes of ♂♂ designated $f Bx^1 Bx^+$ and $Bx^+ Bx^1 car$ are phenotypically inseparable from each other and from those of ♂♂ $Bx^1 Bx^+$ and $Bx^+ Bx^1$ recovered from crossing over in Bx^r/Bx^1 ♀♀.

It must be assumed that Bx^{r2} is not only duplicated for Bx^+ , but in addition for at least two loci arbitrarily designated as *a* and *b* and localized respectively to the left and right of the Beadex locus. Accordingly the genotype of Bx^{r2} may be designated as $a Bx^+ b a Bx^+ b$, Bx^1 as $a Bx^1 b$ and wild-type as $a Bx^+ b$. The origin of the $f Bx^+$ and $Bx^+ Bx^1 car$ exceptional types as a result of crossing over

in ♀♀ $f Bx^1 car/Bx^{r2}$ follows if it is assumed that during the first meiotic prophase Bx^1 pairs with Bx^+ in the right section of the duplication as follows:

$$\begin{array}{c} a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \\ f \dots a \cdot Bx^1 \cdot b \dots car \end{array}$$

A single crossover occurring between a and Bx^1 will result in two exceptional chromosome types: (1) $f a Bx^+ b$ and (2) $a Bx^+ b a Bx^1 b car$. Crossovers occurring between Bx^1 and b will result in no alteration in the Beadex constitution of either chromosome and are indistinguishable from crossovers between b and car .

Alternatively, the origin of the exceptional ♂♂ designated as $Bx^+ car$ and $f Bx^1 Bx^+$ follows if it is assumed that during the first meiotic prophase Bx^1 pairs with Bx^+ in the left section of the duplication thus:

$$\begin{array}{c} a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \\ f \dots a \cdot Bx^1 \cdot b \dots car \end{array}$$

A single crossover occurring between b and Bx^1 will result in two exceptional chromosome types: (3) $a Bx^+ b car$ and (4) $f a Bx^1 b a Bx^+ b$. Crossovers occurring between a and Bx^1 will result in no alternation in the Beadex constitution of either chromosome and are indistinguishable from crossovers between f and a .

Using the crossing over products just described, the duplication nature of Bx^{r2} can be confirmed genetically on the basis of the predicted exceptional crossover types which can be recovered from ♀♀ of the constitution $f Bx^1 Bx^+/Bx^+ Bx^1 car$. Schematically in ♀♀ so constituted the pairing scheme is as follows:

$$\begin{array}{c} f \dots a \cdot Bx^1 \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \\ a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^1 \cdot b \dots car \end{array}$$

Single crossovers occurring between Bx^1 and b in the left section, between b and a and between a and Bx^1 in the right section should produce identical exceptional crossover types. Two complementary types are predictable from this pairing and crossing over scheme: (1) $f a Bx^1 b a Bx^1 b car$ and (2) $a Bx^+ b a Bx^+ b$. Males receiving (1) should have a wing phenotype more extreme than either parental types and should also carry the markers f and car , and can be designated as $f Bx^1 Bx^1 car$; while ♂♂ receiving (2) should manifest the Bx^{r2} phenotype and carry neither marker, and can be designated as Bx^{r2} .

The results of this cross are listed in table 2. It may be noted that the exceptional types recovered fulfill prediction. The Bx^{r2} ♂♂ recovered carried neither marker gene while the exceptional type designated as $Bx^1 Bx^1$ carried both f and car marker genes and manifested a wing phenotype more extreme than either parental phenotype. These results parallel the findings reported in the case of Bx and Bx^1 and it can be concluded that Bx^{r2} is a tandem duplication similar to Bx^r .

Table 2.
Occurrence of exceptional ♂ progeny associated with
crossing over in ♀♀ $f Bx^1 Bx^+/Bx^+ Bx^1 car$.

Total ♂ Progeny	Exceptional ♂ Progeny			
	$f Bx^1 Bx^1 car$	Bx^{r2}	Bx^+	$Bx^+ Bx^1 Bx^+$
1340	6	7	2	1

It may be noted that in addition to the predicted types listed in table 2, three exceptional ♂♂ not predicted from the aforementioned pairing and crossing over scheme in ♀♀ $f Bx^1 Bx^+/Bx^+ Bx^1 car$ were recovered. Two of these ♂♂ (designated as Bx^+) were wild-type in all phenotypic aspects and on testing bred as wild-type ♂♂. One ♂, designated as $Bx^+ Bx^1 Bx^+$, manifested a wing phenotype similar to that of the $f Bx^1 Bx^1 car$ ♂♂ recovered. However, since this ♂ carried neither the f nor car marker genes, it cannot be included as a $Bx^1 Bx^1$ exceptional type. The occurrence of these added exceptional types does not invalidate the conclusions made earlier if infrequent unequal crossing over can be assumed.

If asymmetrical pairing in the ♀♀ $f Bx^1 Bx^+/Bx^+ Bx^1 car$ occasionally occurs such that the sections of the duplication carrying Bx^+ pair, as is indicated schematically in the following,

$$\begin{array}{c} f \dots a \cdot Bx^1 \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \\ a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^1 \cdot b \dots car \end{array}$$

and a single crossover occurs within the paired section, i. e. between a and Bx^+ or between b and Bx^+ , two exceptional types are expected. One would be $a Bx^+ b$ or wild-type and the second $f a Bx^1 b a Bx^+ b a Bx^1 b car$, a triplication presumably resulting in a phenotype more extreme than $Bx^1 Bx^1$. This pairing and crossing over scheme accounts for the exceptional $Bx^+ \delta \delta$; presumably the complementary crossover class either was not recovered because it was not phenotypically distinct or did not occur.

The alternative asymmetrical pairing scheme in ♀♀ $f Bx^1 Bx^+/Bx^+ Bx^1 car$ accounts for the occurrence of the exceptional ♂ designated as $Bx^+ Bx^1 Bx^+$. If it is assumed that infrequently the sections of the duplication carrying Bx^1 pair, as indicated schematically in the following,

$$\begin{array}{c} f \dots a \cdot Bx^1 \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \\ a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^1 \cdot b \dots car \end{array}$$

and a single crossover occurs within the paired section, two exceptional types are expected. One would be $f a Bx^+ b car$ or wild-type and the second $a Bx^+ b a Bx^1 b a Bx^+ b$, manifesting a wing phenotype either inseparable from or more extreme than $Bx^1 Bx^1$. This pairing scheme thus accounts for the occurrence of the $Bx^+ Bx^1 Bx^+ \delta$ and genetic evidence will be presented later which confirms the presence of a triplication.

2. The genotypic constitution of Bx^{r2} .

The preceding account of crossing over between Bx^{r2} and Bx^1 and the genetic analysis of the exceptional types derived is compatible with the interpretation that Bx^{r2} , like Bx^r , is a tandem duplication in which Bx^+ is duplicated. However, there is reason to suspect that Bx^r and Bx^{r2} do not represent identical tandem duplications. A comparison of the frequencies of exceptional types derived from ♀♀ Bx^r/Bx^1 and from ♀♀ Bx^{r2}/Bx^1 points to a significant difference. While the overall frequency of exceptional crossover types derived may not be significantly different in the two crosses, the comparative frequencies of the two types derived from the pairing of Bx^1 with the left and with the right sections in the duplication is clearly different. This comparison is tabulated in table 3. It may be

noted that in the case of $\varphi \varphi Bx^{r2}/Bx^1$ pairing and crossing over in the right section of the duplication is greater than in the left, whereas in the case of $\varphi \varphi Bx^r/Bx^1$ the converse is true.

Table 3. Comparative frequency of ♂ exceptions derived from $\varphi \varphi Bx^{r2}/Bx^1$ and $\varphi \varphi Bx^r/Bx^1$.

Beadex genotype of parental $\varphi \varphi$	I		II		Total ♂♂
	Total ♂ Exceptions	Percent Exceptions	Total ♂ Exceptions	Percent Exceptions	
Bx^{r2}/Bx^1	2	0.05	12	0.32	3601
Bx^r/Bx^1	17	0.29	11	0.18	5874

(Column I represents exceptions derived from pairing and crossing over in left section of duplication; Column II, right section of duplication.)

That this striking difference is not a chance observation is supported by similar results obtained when a second comparison is made, using not the original Bx^r and Bx^{r2} duplications but the duplications derived when these cross over with Bx^1 . To take Bx^{r2} as an example, it may be recalled that from $\varphi \varphi Bx^{r2}/Bx^1$ the exceptional duplication types derived by crossing over are designated as $Bx^1 Bx^+$ and $Bx^- Bx^1$. When $\varphi \varphi$ of the genotypes $Bx^1 Bx^+/Bx^+$ and $Bx^+ Bx^1/Bx^+$ are constituted, it can be demonstrated that among their ♂ progeny exceptional types, viz. Bx^1 and Bx^{r2} , are expected, and that such exceptional progeny depend in each case upon crossing over when Bx^+ is paired with Bx^1 . In $\varphi \varphi$ of the genotype $Bx^+ Bx^1/Bx^+$ this may be illustrated schematically as follows. If Bx^- in the wild-type chromosome pairs with Bx^+ in the duplication thus:

$$\begin{aligned} a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^1 \cdot b \\ a \cdot Bx^+ \cdot b \end{aligned}$$

it can be readily seen that crossovers within the paired section fail to produce exceptional types. However, in the alternative pairing scheme in which Bx^+ pairs with Bx^1 in the duplication as follows:

$$\begin{aligned} a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^1 \cdot b \\ a \cdot Bx^+ \cdot b \end{aligned}$$

and a single crossover occurs between a and Bx^1 , two complementary exceptional types can be derived. They are $a Bx^+ b a Bx^+ b$ (Bx^{r2}) and $a Bx^1 b$ (Bx^1). Cross-overs between Bx^1 and b will not produce exceptional types. Similarly from $\varphi \varphi Bx^1 Bx^+/Bx^+$, Bx^1 and Bx^{r2} can be recovered only when Bx^1 pairs with Bx^+ and the crossover occurs to the right of Bx^1 , i. e. between Bx^1 and b . As demonstrated previously (GREEN 1953) the mechanism for the recovery of Bx^1 and Bx^r from $\varphi \varphi Bx^1 Bx^+/Bx^+$ and $Bx^+ Bx^1/Bx^+$ when $Bx^1 Bx^+$ and $Bx^+ Bx^1$ were recovered as products of crossing over in $\varphi \varphi Bx^r/Bx^1$ parallels exactly the pairing and crossing over schemes described here. Consequently a comparison can again be made of the frequencies of recovery of exceptional types. The results are listed in table 4. Again it is to be noted that the frequencies of exceptional types recovered differs significantly, with the frequency of crossing over being appreciably greater in the left section of the Bx^r derived duplication and appreciably

Table 4. Comparative frequency of ♂ exceptions (Bx^r or Bx^{r2} and Bx^1) derived from ♀♀ $Bx^+ Bx^1/Bx^+$ and ♀♀ $Bx^+ Bx^1/Bx^+$.

Source of duplication chromosome	♀♀ $Bx^+ Bx^1/Bx^+$			♀♀ $Bx^+ Bx^1/Bx^+$		
	Total ♂ Exceptions	Total ♂ Progeny	Percent Exceptions	Total ♂ Exceptions	Total ♂ Progeny	Percent Exceptions
Bx^{r2}	2	6337	0.03	16	4733	0.34
Bx^r	12	5700	0.21	7	4975	0.14

greater in the right section of the Bx^{r2} duplication. These findings are in complete agreement with the results listed in table 3.

It is possible to account for this discrepancy in two ways. One explanation is that the difference is a function of the pairing frequencies. Accordingly it might be presumed that in the cross Bx^r/Bx^1 , Bx^1 paired more frequently with Bx^+ in the left section of the duplication than with Bx^+ in the right section, while in ♀♀ Bx^{r2}/Bx^1 the converse is true and Bx^1 pairs more frequently with Bx^+ in the right section of the duplication than with Bx^+ in the left. If Bx^r and Bx^{r2} are essentially identical duplications, it is difficult to understand what factors could be in operation to bring about such a pronounced difference in pairing frequencies.

A second explanation to account for the observed difference is that the duplications are not of identical genetic length and as a result the opportunities for the occurrence of crossovers differs. It has been demonstrated that Bx^r in addition to being duplicated for Bx^+ is also duplicated for sy^+ to the right and fu^+ and added unknown gene loci to the left (GREEN 1952). Since relatively fewer crossovers occur to the right of Bx^+ in the left section of the Bx^{r2} duplication than in the left section of the Bx^r duplication, it seems probable that in Bx^{r2} either the fu^+ locus or fu^+ and the unknown gene loci to the right are not duplicated as is the case in Bx^r .

Accordingly, crosses were made to determine whether or not the fu^+ locus is duplicated in Bx^{r2} . It may be assumed since fu is recessive to fu^+ that if fu^+ is duplicated in Bx^{r2} the introduction of a single fu mutant gene into the duplication will result in a non-fused phenotype. In the Bx^r duplication such a substitution of the mutant fu for either fu^+ locus does result in a nonfused phenotype (GREEN 1952). However, if fu^+ is not duplicated, the substitution of fu for fu^+ in the Bx^{r2} duplication should result in a fused phenotype. Crosses were made utilizing ♀♀ $Bx^{r2}/f Bx^1 fu$ and the ♂ progeny were inspected for exceptional $Bx^+ Bx^1$ ♂♂. If fu^+ is duplicated in Bx^{r2} then the genotype of the aforementioned ♀♀ may be described as follows:

$$a \cdot Bx^+ \cdot fu^+ \cdot a \cdot Bx^+ \cdot fu^+ \\ f \dots a \cdot Bx^1 \cdot fu$$

In this pairing scheme a crossover between a and Bx^1 would produce ♂♂ $fa Bx^+ fu^+$ and $a Bx^+ fu^+ a Bx^1 fu$; the $Bx^+ Bx^1$ ♂♂ would not be fused in phenotype. However, if fu^+ is not duplicated the genotype of the ♀♀ may be written as follows:

$$a \cdot Bx^+ \cdot a \cdot Bx^+ \cdot fu^+ \\ f \dots a \cdot Bx^1 \cdot fu$$

Here a crossover between a and Bx^1 would produce ♂♂ $fa Bx^+ fu^+$ and $a Bx^+ a Bx^1 fu$; in this case the $Bx^+ Bx^1$ ♂♂ would be fused in phenotype.

Among approximately 5000 ♂ progeny of ♀♀ $Bx^{r2}/f Bx^1 fu$, 8 $Bx^+ Bx^1$ ♂♂ were recovered. All were fused in phenotype. This observation demonstrates the contention that the fu locus is not duplicated in Bx^{r2} , which differs in this respect from the Bx^+ duplication (GREEN 1952).

The genetic evidence also indicates that the Bx^{r2} duplication does not include the sy^+ locus. The initial attempts to test this point were made by using ♀♀ of the genotype $f Bx^{r2} car/sy Bx^1$, from which $Bx^1 Bx^+ car$ ♂♂ were sought. These ♂♂ should carry the sy mutant and depending on whether the Bx^{r2} duplication is or is not duplicated for the sy^+ locus, they will be either wild-type or small eye in phenotype. Among approximately 4000 ♂ progeny, no $Bx^1 Bx^+ car$ ♂♂ were detected. The failure to recover the $Bx^1 Bx^+ car$ ♂♂ was not entirely unexpected however since the occurrence of such ♂♂ depends upon a crossover occurring to the right of the Bx^+ locus in the left section of the duplication when Bx^+ of the left section pairs with Bx^1 . The results obtained with ♀♀ $Bx^{r2}/f Bx^1 car$ indicate that this is an infrequent crossover event. (Note frequency of $Bx^+ car$ and $f Bx^1 Bx^+$ ♂♂ in table 1.)

In view of this difficulty an alternative test was utilized which assured the recovery of the appropriate crossover type with the inclusion of the sy mutant in the Bx^{r2} duplication chromosome. This test involved the triplication $Bx^+ Bx^1 Bx^+$ which was recovered as a result of unequal crossing over in ♀♀ $Bx^1 Bx^+/Bx^+ Bx^1$ (see table 2). If the sy^+ locus is duplicated in Bx^2 , the triplication genotype can be indicated as $sy^+ Bx^+ b sy^+ Bx^1 b sy^+ Bx^+ b$. The b represents one or more loci to the right of Bx^+ but not including the fu^+ locus, which are duplicated in Bx^{r2} and in derivatives through crossing over with Bx^1 , and which must be triplicated in the $Bx^+ Bx^1 Bx^+$ triplication. If ♀♀ heterozygous for the triplication and a normal chromosome of the genotype $f sy Bx^1 car$ are constituted, pairing occurring between the Bx^1 mutants of the two chromosomes can be represented as follows:

$$sy^+ \cdot Bx^+ \cdot b \cdot sy^+ \cdot Bx^1 \cdot b \cdot sy^+ \cdot Bx^+ \cdot b \\ f \dots sy \cdot Bx^1 \cdot b \dots car$$

Crossovers occurring between sy and Bx^1 or Bx^1 and b will result in chromosomes of the genotypes $f sy Bx^1 b sy^+ Bx^+ b$ and $sy^+ Bx^+ b sy^+ Bx^1 b car$. The $f Bx^1 Bx^+$ chromosome is critical for the determination; the eyes of ♂♂ of this genotype should be wild-type since sy is recessive to sy^+ .

If sy^+ is not duplicated in Bx^{r2} , the genotype of the duplication may be noted as $sy^+ a Bx^+ b a Bx^+ b$, where a represents one or more duplicated loci to the left of Bx^+ . It follows that the triplication genotype can be described as $sy^+ a Bx^+ b a Bx^1 b a Bx^+ b$. In ♀♀ heterozygous for the triplication and $f sy Bx^1 car$, pairing between Bx^1 sections of each chromosome can be designated as follows:

$$sy^+ \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^1 \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \\ f \dots sy \cdot a \cdot Bx^1 \cdot b \dots car$$

Crossovers occurring between a and Bx^1 or Bx^1 and b will result in chromosomes of the genotypes $f sy a Bx^1 b a Bx^+ b$ and $sy^+ a Bx^+ b a Bx^1 b car$. The first crossover is critical for the analysis; ♂♂ $f Bx^1 Bx^+$ should be small eye in phenotype.

Concurrently crosses were made using ♀♀ heterozygous for the triplication and a normal chromosome of the genotype $f sy Bx^+ car$. In such ♀♀ the critical crossovers can be similarly recovered as a consequence of pairing of Bx^+ of the normal chromosome with Bx^1 of the triplication accompanied by a crossover to the left of the Beadex locus and within the paired section. The resultant crossovers will be $f Bx^1 Bx^+$ and $Bx^+ Bx^+ car$. If sy^+ is triplicated, the $f Bx^+ Bx^1 ♂♂$ recovered should be $f sy Bx^1 b sy^+ Bx b^+$ and have wild-types eyes. If sy^+ is not triplicated, the $f Bx^1 Bx^+ ♂♂$ recovered should be $f sy a Bx^1 b a Bx^+ b$ and manifest the small eye phenotype.

Table 5. Occurrence of exceptional ♂ progeny associated with crossing over in ♀♀ heterozygous for $Bx^+ Bx^1 Bx^+$ and a normal X chromosome.

Genotype ♀♀	Exceptional ♂♂					Total ♂♂
	$f sy Bx^+ Bx^1 Bx^+$	$Bx^+ car$	$Bx^+ Bx^1 car$	$f sy Bx^1 Bx^+$	$f sy Bx^+ Bx^+$	
$\frac{Bx^+ Bx^1 Bx^+}{f sy Bx^1 car}$	4	4	6	1	2	2149
	$f sy Bx^+ Bx^1 Bx^+$	$Bx^+ car$	$Bx^{r2} car$	$f sy Bx^1 Bx^+$		
$\frac{Bx^+ Bx^1 Bx^+}{f sy Bx^+ car}$	2	4	1	2		2582

The results of these crosses are listed in table 5. It may be noted that in each cross where the triplication arose from the Bx^{r2} duplication, the critical crossover type, viz. $f Bx^1 Bx^+$, was small eye in phenotype while the contrary crossovers, $Bx^+ Bx^1 car$ and $Bx^{r2} car$, were not small eye.

These observations permit the conclusion that the sy^+ locus is not duplicated in Bx^{r2} . On the basis of the tests with sy and fu , the genotype of Bx^{r2} can be specified as $sy^+ a Bx^+ b a Bx^+ b fu^+$ where a represents the duplicated locus or loci to the left and b the duplicated locus or loci to the right of Bx^+ .

The foregoing discussion has been based on the pairing and crossing over involving the middle section of the triplication. Included in table 5 are exceptional ♂ progeny derived as a consequence of pairing and crossing over involving the Beadex locus of the normal chromosome and the Bx^+ loci in the left and right sections of the triplications. These results verify the genotypic constitution of the triplication as $Bx^+ Bx^1 Bx^+$.

In ♀♀ of the constitution $Bx^+ Bx^1 Bx^+/f sy Bx^1 car$ if pairing involves the left section of the triplication as follows:

$$sy^+ \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^1 \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \\ f \dots sy \cdot a \cdot Bx^1 \cdot b \dots car$$

and a crossover occurs between sy and Bx^1 , the resultant chromosomes will be $f sy Bx^+ Bx^1 Bx^+$ and $Bx^1 car$. It may be noted in table 5 that these crossover types were recovered.

If pairing involves the right section of the triplication as follows:

$$sy^+ \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^1 \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \\ f \dots sy \cdot a \cdot Bx^1 \cdot b \dots car$$

crossing over between a and Bx^1 will result in chromosomes of the genotype $f\ sy\ Bx^+$ and $Bx^+ Bx^1 Bx^1\ car$. As noted in table 5 $f\ sy\ Bx^+$ ♂♂ were recovered but the complementary crossover class presumably could not be distinguished. The various exceptions as listed in table 5 fulfill expectation and verify the genotypic constitution of the triplication as designated.

The aforementioned determination of the genetic limits of the Bx^{r2} duplication suggests that cytologically it is in all probability shorter than the duplication associated with Bx^r . This has been verified by Dr. E. B. LEWIS who has examined the salivary gland X chromosomes of the Bx^{r2} and Bx^r duplications. While Bx^r is associated with a relatively long duplication in which sections 17A, B, C, D, E and possibly 17F are duplicated, Bx^{r2} is associated with a duplication of the 17A, B and C sections, the exact limits still to be determined.

It is now possible to return to the question of why in ♀♀ Bx^{r2}/Bx^1 the greater proportion of exceptional progeny are derived as a consequence of pairing and crossing over in the right section of the Bx^{r2} duplication. It would appear likely on the basis of the frequency of exceptional types that the interval $a-Bx^+$ in the Bx^{r2} duplication is sufficiently greater in genetic length than the interval Bx^+-b to account for the difference in frequency of exceptions derived from pairing and crossing over in the left and right sections of the duplication. However, there is data at hand which indicates that a different genetic length is not the only explanation of the aforementioned difference. It has been possible to estimate the frequency of crossing over in the sy^+-By^+ interval in both the left and right sections of the Bx^r duplication. Two separate experiments involving a total of approximately 16000 progeny gave the following results:

per cent crossing over sy^+-Bx^+			
	left section	right section	Total
1.	0.16	0.12	0.28
2.	0.27	0.11	0.38

It may be noted from these results that the total frequency of crossing over in both sy^+-Bx^+ intervals of Bx^r ranged from 0.28—0.38%, while it has been shown that for the $a-Bx^+$ interval in the right section only of Bx^{r2} , the crossing over frequency ranged from 0.32—0.34% (see tables 3 and 4). In order to account for this observation that the percent crossing over in only one section of the Bx^{r2} duplication is nearly as great as in both sections of Bx^r , it must not only be assumed that the $a-Bx^+$ interval in Bx^{r2} must be as near the length of the sy^+-Bx^+ interval of Bx^r as possible, but in addition it suggests that preferential pairing occurs between the right Beadex section of the duplication and the Beadex region of the normal chromosome in ♀♀ Bx^{r2}/Bx^1 . While these observations are not decisive, a single experiment involving ♀♀ $f\ Bx^{r2}\ car/sy\ Bx^1$, in which it was possible by virtue of their genetic constitution to estimate the frequency of crossing over in the $a-Bx^+$ interval of both sections of the Bx^{r2} duplication, gave results supporting the interpretation of preferential pairing. In such ♀♀ pairing of Bx^1 with Bx^+ in the left section of the duplication as follows,

$$f \dots sy^+ \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \dots car$$

$$sy \cdot a \cdot Bx^1 \cdot b$$

accompanied by crossing over in the $sy-Bx^1$ interval will result in progeny which will be $f Bx^+ Bx^1$ and $sy Bx^+ car$. If pairing occurs between Bx^1 and Bx^+ of the right section of the duplication

$$f \dots sy^+ \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \dots car$$

$$sy \cdot a \cdot Bx^1 \cdot b$$

accompanied by a crossover in the $a-Bx^1$ interval, the resultant progeny will be $f Bx^+ Bx^1$ and $sy Bx^+ car$. Among approximately 4000 ♂ progeny examined, 1 ♂ $f Bx^1$, 7 ♂ $sy^+ Bx^+ car$ and 4 ♂ $f Bx^+ Bx^1$ were detected. This ratio of one crossover occurring in the left section of the duplication as contrasted to eleven in the right supports the assumption of preferential pairing. It should be noted that the postulate of preferential pairing depends upon the further assumption that the two sections of the Bx^{r2} duplication are identical. At present no critical information on this point is available.

3. Unequal crossing over involving Bx^{r2} .

It was reported previously (GREEN 1953) that ♀♀ homozygous Bx^r produce only Bx^r male progeny, indicating that the Bx^r duplication is essentially stable, *i. e.* pairing of the components of the duplication is symmetrical. Identical tests with homozygous Bx^{r2} ♀♀ indicate that unequal crossing over as a result of asymmetrical pairing of the component elements of the duplication does occur,

as evidenced by the recovery of exceptional ♂ progeny. The results of crosses involving ♀♀ $f Bx^{r2} car/Bx^{r2}$ are listed in table 6. It may be seen that in addition to the expected Bx^{r2} ♂ progeny, two exceptional ♂ types were recovered. These are

Table 6.
Unequal crossing over in ♀♀ $f Bx^{r2} car/Bx^{r2}$.

Total ♂ Progeny	Exceptional ♂ Progeny			
	$f Bx^+$	$(Bx^+)^3 car$	$Bx^+ car$	$f (Bx^+)^3$
4308	4	7	7	6

$Bx^+ \delta\delta$ carrying either f or car and $\delta\delta$ designated as $(Bx^+)^3$, with a wing phenotype more extreme than that of Bx^{r2} and similarly carrying either f or car . (See figure 3.) It can be assumed that the $f Bx^+$ and $(Bx^+)^3 car \delta\delta$ represent one pair of complementary unequal crossover types and the $Bx^+ car$ and $f (Bx^+)^3 \delta\delta$ the second pair of complementary crossover types.

If pairing is asymmetrical and a single crossover occurs within the paired section, the resultant crossover products will constitute the wild-type (unduplicated) condition and a triplication. This may be illustrated schematically as follows. Assume that in ♀♀ $f Bx^{r2} car/Bx^{r2}$, the left section of the duplication in one chromosome pairs with the right section of the duplication as follows:

$$f \dots a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \dots car$$

$$a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b$$

A single crossover occurring between a and Bx^+ or Bx^+ and b in the paired section will result in (1) $Bx^+ car$ or wild-type wing phenotype and (2) $f Bx^+ Bx^+ Bx^+$, a triplication designated for simplicity as $f (Bx^+)^3$.

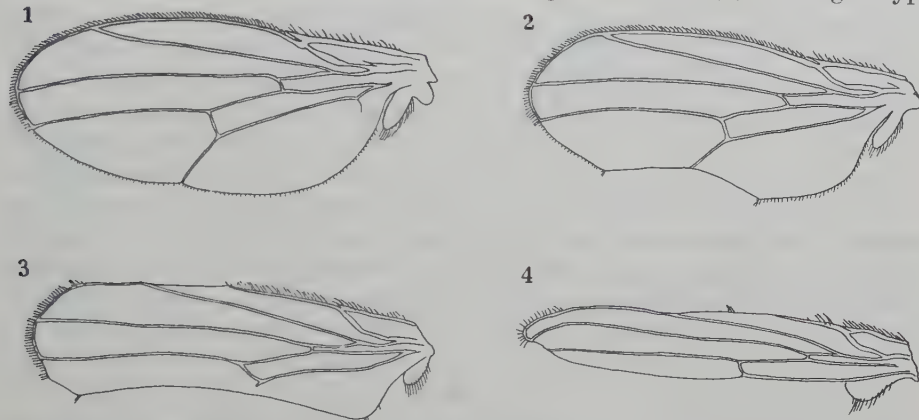
The alternative asymmetrical pairing scheme may be indicated as follows:

$$f \dots a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \dots car$$

$$a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b$$

A single crossover occurring between a and Bx^+ or Bx^+ and b in the paired section will result in (3) $f Bx^+$ or wild-type wing phenotype and (4) $Bx^+ Bx^+ Bx^+ car$, a triplication identical genetically and phenotypically to (2) noted above and which can be similarly designated as $(Bx^+)^3 car$. Thus the interpretation of unequal crossing over similar to that observed in *D. melanogaster* for the cases of Bar eye (STURTEVANT 1925) and of the Star duplication (LEWIS 1941) accounts for the occurrence of exceptional phenotypes among the ♂ progeny of ♀♀ $f Bx^{r2} car/Bx^{r2}$.

That the individuals designated $f (Bx^+)^3$ and $(Bx^+)^3 car$ are triplications as indicated can be demonstrated in the following manner. If ♀♀ of the genotype



Figures 1—4. Wing phenotypes of ♂♂ of the following genotypes. Fig. 1 wild-type; Fig. 2 Bx^{r2} ; Fig. 3 $(Bx^+)^3$; Fig. 4 $(Bx^+)^4$.

$f (Bx^+)^3/Bx^+ car$ are constituted, it would be predicted that in addition to the expected progeny, exceptional ♂♂ $f (Bx^+)^2 car$, *i. e.* $f Bx^{r2} car$, and $(Bx^+)^2$, *i. e.* Bx^{r2} would be recovered. These exceptional ♂♂ would occur as a result of pairing of Bx^+ of the wild-type X chromosome with Bx^+ in the middle of the triplication. This is illustrated schematically as follows:

$$f \dots a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \\ a \cdot Bx^+ \cdot b \dots car$$

A single crossover occurring between a and Bx^+ or Bx^+ and b in the paired section would result in chromosomes of the constitution $f (Bx^+)^2 car$, *i. e.* $f Bx^{r2} car$, and $(Bx^+)^2$, *i. e.* Bx^{r2} . Identical results would be expected from ♀♀ of the genotype $(Bx^+)^3 car/f Bx^+$.

Table 7. Unequal Crossing over in ♀♀ $(Bx^+)^3/Bx^+$.			
Genotype ♀♀	Total ♂ Progeny	Exceptional ♂♂	
		$f Bx^{r2} car$	Bx^{r2}
$(Bx^+)^3 car$ $f Bx^+$	4019	3	4
$f (Bx^+)^3$ $Bx^+ car$	3936	6	10

Such crosses were made and the results are listed in table 7. It may be noted that the exceptional types as predicted were recovered, thereby establishing the triplication nature of the individuals designated as $(Bx^+)^3$.

The genotype $(Bx^+)^3$ is dominant to wild-type. In ♀♀ $(Bx^+)^3/Bx^+$ the inner margins of the wings are excised very much as in Bx^1/Bx^+ ♀♀. Penetrance is

good and under ordinary laboratory conditions no wild-type overlaps have been observed.

Unequal crossing over has been detected also in ♀♀ homozygous for the triplication. Among the progeny of ♀♀ $f(Bx^+)^3/(Bx^+)^3 car$, ♂♂ of two exceptional wing phenotypes have been recovered which are completely separable from $(Bx^+)^3$ ♂♂. One group of ♂♂, either $f car$ or $f^+ car^+$ manifest a wing phenotype indistinguishable from that of Bx^{r2} . The second group of ♂♂, either $f car$ or $f^+ car^+$, manifest a wing phenotype more extreme than that of $(Bx^+)^3$ ♂♂ and are readily separable therefrom. (See figure 4.)

Table 8.
Unequal crossing over in ♀♀ $f(Bx^+)^3/(Bx^+)^3 car$.

Total ♂ Progeny	Exceptional ♂ Progeny			
	$f Bx^{r2} car$	$(Bx^+)^4$	Bx^{r2}	$f (Bx^+)^4 car$
2002	5	5	7	8

The results of these crosses are listed in table 8. It is assumed on the basis of the distribution of the marker genes f and car among the exceptional types as well as on the basis of the wing phenotypes that the exceptional types are genotypically Bx^{r2} and $(Bx^+)^4$ or a quadru-

plication of the Bx^+ element. The occurrence of these exceptional types is explained by unequal crossing over in ♀♀ homozygous $(Bx^+)^3$. Again the expected unequal crossing over products can be predicted from the following asymmetrical pairing scheme. Assume that in ♀♀ $f(Bx^+)^3/(Bx^+)^3 car$ pairing occurs as follows:

$$\begin{array}{c} f \dots a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \\ a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \dots car \end{array}$$

A single crossover occurring within the paired section will result in chromosomes of the constitution $(Bx^+)^2$ or Bx^{r2} and $f(Bx^+)^4 car$. On the basis of the phenotypes associated with Bx^{r2} and $(Bx^+)^3$ it follows that the wing phenotype of quadruplication ♂♂ should be more extreme than that of duplication or triplication ♂♂.

If the alternative pairing scheme occurs as follows:

$$\begin{array}{c} f \dots a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \\ a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \cdot a \cdot Bx^+ \cdot b \dots car \end{array}$$

a single crossover occurring within the paired section will result in chromosomes of the constitution $f(Bx^+)^2 car$, i. e. $f Bx^{r2} car$, and the quadruplication without f and car , i. e. $(Bx^+)^4$.

Discussion.

The genetic analysis presented has verified the tandem duplication nature of Bx^2 . A comparison of the genetic and cytological constitutions of the duplications associated with Bx^{r2} and Bx^r permits a critical evaluation of the factors which underlie the determination of their respective mutant wing phenotypes. It is significant to note that whereas Bx^{r2} and Bx^r differ both genetically and cytologically, they are phenotypically inseparable. This identity of phenotypes indicates that the Beadex wing phenotype is independent of the overall length of the duplication, and suggests further that the duplicated sy^+ and fu^+ loci in Bx^r have no significant rôle in the determination of the Beadex phenotype. It appears reasonable to conclude that the mutant wing phenotype associated with

Bx^{r2} and Bx^r is primarily if not solely an attribute of the duplication of the Bx^+ locus.

It was concluded earlier (GREEN 1953) that the Bx^r phenotype is the consequence of a position effect. The genetic analysis of Bx^{r2} has in no way contradicted but rather has affirmed this conclusion. An alternative explanation for the mutant phenotypes associated with Bx^r and Bx^{r2} could be based on the assumption that the Bx^+ gene is antimorphic in action. The mutant phenotypes associated with the duplications could be the result of the increased dosage of Bx^+ . There are number of reasons for believing that this interpretation is unlikely. On the basis of a gene dosage interpretation it would be expected that the phenotype of ♀♀ homozygous for either duplication would be more extreme than that of hemizygous duplication ♂♂. However, no such difference between them has been observed. In addition it would be presumed from a gene dosage interpretation that the phenotypes of ♀♀ homozygous Bx^r or Bx^{r2} should be inseparable from that of ♀♀ (Bx^+)³/ Bx^+ . However this is not the case. Whereas ♀♀ homozygous Bx^r or Bx^{r2} frequently overlap wild-type in phenotype, no such wild-type phenotypes have been observed among ♀♀ (Bx^+)³/ Bx^+ .

The position effect interpretation implies that an alteration in the normal functioning of the Bx genes occurs when they are associated together on the same chromosome, thus resulting in a mutant phenotype. In addition, there is evidence which points to the fact that position effects mutants at the Beadex locus as well as the wild-type alleles. Thus the phenotypes of $Bx^+ Bx^- / Bx^+$ and $Bx^+ Bx^- / Bx^-$ (or $Bx^+ Bx^- / Bx^+$) are different and heterozygotes in which Bx^+ is included in the duplication are more extreme. These observations when considered together point to position effect as a basis for the phenotypes manifested by the duplications.

Two general hypotheses relative to the mechanism of position effect have been proposed. These have been discussed in detail by E. B. LEWIS (1950) and only brief mention is necessary here. The kinetic hypothesis (EPHRUSSI and SUTTON 1944) is based on the assumption that gene itself is unaltered and the position effect is primarily a function of the alteration in the immediate or early gene products. The alternative, the structural hypothesis (EPHRUSSI and SUTTON *vide supra*) is based on the assumption that the gene itself is reversibly altered such that in one form, as in a tandem duplication, its function differs from that of its alternative state when not included in a duplication. The structural hypothesis implies that a somatic structural stress is imposed on the gene as a consequence of altered pairing relationships when associated with a chromosome aberration such as tandem duplication.

It would be appropriate to consider here briefly the implications of these hypotheses as related to position effect of the Beadex locus.

In applying the kinetic hypothesis to the Beadex case, it must be assumed that the Bx gene operates at a particular stage in the sequence of developmental events which ultimately results in the differentiation of a normal wing. This can be described by assuming that the Bx gene is necessary for the conversion of a substrate S to a product P and that the quantity of S formed is independent of Bx^+ . The association of a mutant phenotype with Bx^{r2} and Bx^r can be interpreted in terms of efficiency of utilization of S (STERN 1943) or in terms of competition for S by the Bx^+ genes.

If it is assumed further that a threshold amount of P is necessary for normal wing differentiation, it can be reasoned in the case of duplications of Bx^+ , each Bx^+ gene utilizes a portion of the available S. From this premise it can be argued that either in competing for the available S or in the utilization of the limited amounts of S, the efficiency of the duplicated Bx^+ genes is impaired such that a sub-threshold quantity of P is formed. As a result, a mutant rather than a normal wing is formed. It follows from this hypothesis that when Bx^+ is triplicated, either the competition for or the utilization of S is further impaired and the resultant wing phenotype is more abnormal than in the case of duplication individuals.

Certain difficulties are encountered in applying the structural hypothesis to the Beadex position effect. It may be recalled that the phenotypes associated with Bx^r and Bx^{r2} , either homozygous or heterozygous with wild-type, are inseparable despite the fact that genetically and cytologically the duplications differ strikingly. Similar results have been obtained by comparing the phenotypes of triplications of Bx^+ of different genetic length. In addition to the triplication derived from unequal crossing over in Bx^{r2} homozygotes, which can be designated genetically as $sy^- Bx^+ Bx^- Bx^+ fu^-$, triplications have also been recovered as a consequence of unequal crossing over in $\text{♀♀ } Bx^{r2}/Bx^r$ (GREEN, unpublished). The latter are of two genetic types, viz. $sy^+ Bx^+ Bx^- fu^+ sy^- Bx^- fu^-$ and $sy^+ Bx^+ fu^- sy^+ Bx^+ Bx^- fu^+$. No difference between the phenotypes of the triplications either homozygous or heterozygous for wild-type has been detected. If the structural hypothesis of position effect is invoked, it would be presumed that there would be phenotypic differences between Bx^{r2} and Bx^r and between the several triplications. This is based on the assumption that differences in the overall genetic and cytological lengths of the rearrangements impose different pairing stresses and consequently different structural alterations in the Bx genes. The failure to detect the expected phenotypic differences might argue against the applicability of the structural hypothesis of position effect. It could be argued, nonetheless, that the structural hypothesis is applicable provided it is assumed that a threshold stress effect is sufficient to alter the normal functioning of the Bx^+ genes. From this assumption it can be reasoned that there is sufficient structural stress imposed on the Bx^+ genes in the duplications or the triplications to render an equivalent alteration in the functioning of the Bx^+ genes. Thus the inseparable phenotypes associated with Bx^r and Bx^{r2} and with the triplication of Bx^+ can be reconciled to the structural hypothesis.

It may be concluded from the foregoing discussion that while a position effect is involved, it does not appear possible at the present to critically differentiate between the validity of the kinetic and structural hypotheses.

Summary.

1. A genetic analysis of the mutant Bx^{r49k} (herein designated as Bx^{r2}) in *D. melanogaster* is reported.
2. Crossing-over occurs between Bx^{r2} and Bx^1 . From the analysis of the crossover types recovered, it is concluded that Bx^{r2} is associated with a tandem duplication in which the Bx^+ locus as well as unknown gene loci to the right and

left of Bx^+ are duplicated. The sy^+ and fu^+ loci are not duplicated in Bx^{r2} as previously reported for Bx^r .

3. The duplication nature of Bx^{r2} has been confirmed by a salivary gland chromosome analysis.

4. In ♀♀ homozygous Bx^{r2} unequal crossing over occurs by which means triplications of the Bx^+ locus have been recovered. This occurrence of unequal crossing over is in sharp contrast to the absence of unequal crossing over previously reported for ♀♀ homozygous Bx^r .

5. Unequal crossing over also occurs in ♀♀ homozygous for the Bx^+ triplication and as a consequence quadruplications of the Bx^+ locus have been recovered.

6. It is concluded that the phenotypes associated with duplication, triplication and quadruplication of the Bx^+ locus are the result of position effect.

Acknowledgments.

The author wishes to thank Dr. E. B. LEWIS who has generously made the salivary gland chromosome analysis reported herein and Mrs. FUN TING PUN who has rendered valuable technical assistance.

Literature.

BRIDGES, C. B., and K. C. BREHME: The mutants of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Instn. Washington Publ. **552** (1944). — EPHRUSSI, B., and E. SUTTON: A reconsideration of the mechanism of position effect. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **30**, 183 (1944). — GREEN, M. M.: The Beadex locus in *Drosophila melanogaster*: The genotypic constitution of Bx^r . Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **38**, 949 (1952). — The Beadex locus in *Drosophila melanogaster*: On the nature of the mutants Bx^r and Bx^l . Genetics **38**, 91 (1953). — LEWIS, E. B.: Another case of unequal crossing-over in *Drosophila melanogaster*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **27**, 31 (1941). — The phenomenon of position effect. Adv. Genet. **3**, 73 (1950). — STERN, C.: Genic action as studied by means of the effects of different doses and combinations of alleles. Genetics **28**, 441 (1943). — STURTEVANT, A. H.: The effects of unequal crossing over at the Bar locus in *Drosophila*. Genetics **10**, 117 (1925).

M. M. GREEN, Dept. of Genetics, University of California,
Davis, California, U. S. A.

Aus dem Institut für Kulturpflanzenforschung der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin in Gatersleben und dem Institut für Genetik der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle a. d. Saale.

ÜBER MONO- UND DIGEN BEDINGTE HETEROSIS BEI *ANTIRRHINUM MAJUS* L.*.

Von

H. STUBBE.

Mit 14 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Juli 1953.)

Einleitung.

Im Jahre 1940 veröffentlichten H. STUBBE und K. PIRSCHLE einen monogen bedingten Fall von Heterosis bei *Antirrhinum majus*. Es handelte sich um die rezessive Mutante *spectabilis* der Sippe 50, die homozygot eine leichte Aufhellung der Blätter, gehemmtes Wachstum und späte Blüte bewirkt. Diese Sippe mutiert generativ gehäuft zu normal zurück, und umfangreiche Messungen und Beobachtungen zeigten, daß die Heterozygoten wüchsiger waren, kräftigere Stengel und größere Blätter sowie eine stärkere Verzweigung und längere Seitensprosse hatten, früher und üppiger blühten als gleich alte homozygot dominante und rezessive Individuen.

Wir sprachen diesen Fall seinerzeit als den ersten klaren Fall einer monohybrid bedingten Heterosis an, der eindeutig bewies, daß die Heterozygotie an sich den Heterosiseffekt bedingte. Wir wurden jedoch durch eine spätere Veröffentlichung von Å. GUSTAFSSON (1946) dahin belehrt, daß außer den von uns erwähnten Beispielen für das Vorliegen monogen bedingter Heterosis (RASMUSSEN 1935 und HIORTH 1940) noch eine Reihe weiterer Fälle in der Literatur, vornehmlich bei Gramineen, bekannt waren, die das von uns beobachtete Phänomen schon mehr oder minder deutlich erkannt hatten.

So haben RASMUSSEN (1927) bei *Pisum*, MANGELSDORF (1928), WENTZ und GOODSELL (1929) bei Mais erste, jedoch nicht ganz sichere Hinweise für die Überlegenheit von Monohybriden gegenüber den Ausgangsformen bei ihren Objekten gefunden. KAPER (1930) stellte fest, daß eine *albina*-Mutante der Hirse in heterozygotem Zustand eine leichte, aber gesicherte Überlegenheit gegenüber den dominanten Homozygoten im Pflanzen- und Ährengewicht, in der Länge der Ähren, der Verzweigung und dem Beginn des Blühtermins zeigte. ROBERTSON (1932) und ROBERTSON und AUSTIN (1935) untersuchten bei der Gerste eine Anzahl von Chlorophyllmutanten (*albina* und *xantha*) und fanden die Heterozygoten in verschiedenen Merkmalen überlegen. Bei diesen Autoren finden sich auch erste Angaben über das Verhalten dihybrider Pflanzen, die in manchen Merkmalen die Leistung der Homozygoten nicht erreichten, in anderen sie jedoch übertrafen. SINGLETON (1943) fand in der Mais-Inzuchtlinie P 39 die Mutante C 30, die durch gehemmten Wuchs auffiel. Wurden P 39 und C 30 mit der Inzuchtlinie C 13 gekreuzt, so erbrachte die Kombination C 30 × C 13 höhere Erträge als P 39 × C 13.

* OTTO RENNER zum 70. Geburtstag gewidmet.

JONES (1945) untersuchte 5 Mais-Mutanten, die die Leistungsfähigkeit der Inzuchtlinie, in der sie entstanden waren, herabsetzten, die in Bastardkombinationen jedoch eine höhere Leistung zeigten und HULL (1945) kam aus Ertragsvergleichen der F_1 und F_2 von Maiskreuzungen zu dem Schluß, daß der Ertragsabfall in der F_2 durch Abnahme des an die Heterozygotie gebundenen overdominance-Effektes und durch gleichzeitige Zunahme der Homozygotie zu erklären sei. Auch STRINGFIELD (1950), der beim Mais den Einfluß verschiedener Heterozygotiegrade auf die Heterosis untersuchte, konnte die Bastardwüchsigkeit als eine Funktion der Heterozygotie erkennen. Das gleiche gilt für eine Untersuchung, die GRANHALL (1946) beim Weizen durchführte. Er fand bei Kreuzungen der Winterweizensorte Pansar mit ihrer bärtigen Mutante, daß die heterozygoten (halbbärtigen) Pflanzen vitaler waren als die Ausgangsform. Sehr umfangreiche und sorgfältige Versuche haben dann GUSTAFSSON (1946, 1947) und GUSTAFSSON, NYBOM und v. WETTSTEIN (1950) bei der Gerste mit homozygot letal wirkenden rezessiven Mutanten durchgeführt. So ergaben *albina* 7, *xantha* 3 und *alboxantha* leichte, aber gesicherte Heterosiseffekte in heterozygotem Zustand, wobei die Überlegenheit der Heterozygotie im einzelnen von der Umwelt stark beeinflußt wurde. GUSTAFSSON, NYBOM und v. WETTSTEIN unterscheiden daher je nach der umweltbedingten Wirkung superrezessive, rezessive, semidominante, dominante und superdominante Allele in den mono- oder dihybriden Bastarden, wobei die superrezessiven Letalen eine „positive“ Heterosis, die superdominanten Letalen eine Art „negative“ Heterosis bewirken. Die Vitalitätssteigerung in den Monohybriden ließ sich in den dihybriden Kombinationen in verstärktem Maße nachweisen. Setzt man den Vitalitätsindex für die Normalform = 100, so ergaben sich für die Ährchenzahl der 6 möglichen Kombinationen folgende Werte:

Dihybride aus <i>alboxantha</i> $\times$ <i>albina</i> 7 . .	123,6
Dihybride aus <i>alboxantha</i> $\times$ <i>xantha</i> 3 . .	113,1
Dihybride aus <i>albina</i> 7 $\times$ <i>xantha</i> 3 . . .	111,3
Monohybride aus <i>alboxantha</i>	112,7
Monohybride aus <i>albina</i> 7	111,2
Monohybride aus <i>xantha</i> 3	106,1

Daß bei Gerste und Weizen und, wie noch zu zeigen sein wird, auch bei *Antirrhinum*, nicht nur letale bzw. semiletale Chlorophyllmutanten in Bastarden Heterosiseffekte bedingen, konnte NYBOM (1950) an Kreuzungen zwischen der Gerstensorte Bonus und 3 röntgeninduzierten *Erectoides*-Mutanten Er 19, Er 21, Er 23 nachweisen. Halm- und Ährenlänge zeigten in den Bastarden einen Leistungsanstieg gegenüber beiden Kreuzungseltern, womit auch für diese Fälle monogen bedingte Heterosis bewiesen wurde.

HAGBERG (1953) erweiterte die Untersuchungen an *Erectoides*-Mutanten der Gerste und fand von 7 genauer geprüften Kombinationen Mutante $\times$ Mutterlinie 2 Kombinationen überlegen im totalen Pflanzengewicht, Kornertag je Pflanze und Bestockung und eine von ihnen ebenfalls in der Zahl der Blütenchen je Ähre. Auch in diesen Versuchen zeigte sich von Jahr zu Jahr eine bedeutende Abhängigkeit in der Ausprägung der Merkmale von Umweltbedingungen. Bei dem Vergleich von mono- und dihybriden Heterozygoten konnte in manchen Fällen eine kumulative Wirkung der beiden heterozygoten Allelverbindungen (z. B. Ährendichte) festgestellt werden. Wichtig aber ist die auch von anderen Autoren gefundene Tatsache, daß auf der Grundlage pleiotroper Effekte der einzelnen

untersuchten Allele einige Merkmale im Bastard überlegen, andere dagegen unterlegen waren. HAGBERG (1953) hat weiterhin das Problem der Heterosis in einer zusammenfassenden Arbeit behandelt, auf die wir bei der Besprechung des neuen Materials von *Antirrhinum* noch hier und da eingehen werden.

Auch bei Tieren, insbesondere bei *Drosophila*, sind in den letzten Jahren einige Fälle gefunden worden, die eine Stütze für die Heterozygotiehypothese der Heterosis darstellen, mag es sich dabei um Heterozygotie einzelner Gene oder um Strukturheterozygotie handeln. Im letztgenannten Fall spielen jedoch gekoppelte polygene Komplexe als Ursache der Heterosis eine Rolle, die hier nicht näher betrachtet werden sollen (s. Literatur bei DOBZHANSKY, 1950).

Eigene Versuche.

Eigene Versuche zum Problem der durch Heterozygotie einzelner Gene bedingten Heterosis wurden 1949 erneut mit Chlorophyllmutanten der Sippe 50 von *Antirrhinum majus* L. wieder aufgenommen*. Meist erfolgten die Kreuzungen reziprok. Bei der Anzucht der Pflanzen wurde auf gleichmäßige Aussaat, gleiche Umweltverhältnisse im Gewächshaus und Freiland besonderer Wert gelegt. AA-, Aa- und aa-Pflanzen wurden im gleichen Pikierkasten in gut durchmischter Erde pikiert, die ersten Messungen schon im Frühbeetkasten durchgeführt.

In jedem Pikierkasten fanden sich zur Feststellung monohybrider Heterosis (S. 50 $\times$ mut. und reziprok) die Pflanzen in folgender Verteilung:

Mutante 2 Reihen zu je 6 Pflanzen	12 Pflanzen
Sippe 50 4 Reihen zu je 6 Pflanzen	24 „
F ₁ -Bastard 4 Reihen zu je 6 Pflanzen	24 „
Mutante 2 Reihen zu je 6 Pflanzen	12 „

Zur Feststellung dihybrider Heterosis (mut¹ $\times$ mut² und reziprok) wurden in jedem Pikierkasten die Pflanzen in folgender Reihe pikiert:

mut ¹ 2 Reihen zu je 6 Pflanzen	12 Pflanzen
F ₁ -Bastard 5 Reihen zu je 6 Pflanzen	30 „
Sippe 50 3 Reihen zu je 6 Pflanzen	18 „
mut ² 2 Reihen zu je 6 Pflanzen	12 „

Die reziproken Kreuzungen mit jeder Mutante wurden in der gleichen Weise behandelt. In allen Versuchsgruppen wurde die gleiche Anzahl Pflanzen eingetopft, die zu weiteren Messungen und Zählungen Verwendung fanden, und zwar:

Sippe 50	15 Pflanzen
F ₁ -Bastard reziprok	je 25 „
mut ¹	10 „
mut ²	10 „

Ermittelt wurde in Abständen von 14 Tagen das Höhenwachstum der Pflanzen, ferner wurde die Länge der Infloreszenzen, das Aufblühdatum der ersten Blüte, die Anzahl der Seitentriebe, die durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels, die durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben festgestellt. Da alle Chlorophyllmutanten im homozygoten Zustand der Ausgangsform an Wüchsigkeit unterlegen sind, wurden als Heterosiseffekte nur

* Fräulein MARGARETE und URSULA FASSHAUER und Fräulein ROSEMARIE HERRMANN möchte ich für ihre unermüdliche Arbeit bei der Betreuung und Auswertung des Materials herzlich danken.

solche bezeichnet, in denen der Bastard der homozygoten Ausgangsform in irgendeinem der untersuchten Merkmale überlegen war, also $Aa > AA > aa$.

Die Berechnung zur Beurteilung der Mittelwerte der einzelnen Meßgruppen erfolgte nach S. KOLLER, S. 36: „Die Beurteilung von Messungsreihen“. Die Fehlerangaben in den Tabellen geben nicht die einfachen mittleren Fehler an, sondern die Fehlerbereiche der Mittelwerte. Diejenigen Mittelwerte, die durch die Prozentzahlen ausgedrückt sind (s. Spalte 9, 10), wurden auf ihre mehr oder weniger gesicherte Differenz nach KOLLER, S. 28, Tafel 5 und S. 32, Tafel 6 geprüft. Auf die Angaben der Mittelwerte wurde überall da verzichtet, wo eine Beurteilung der Meßwerte nicht erforderlich war, so z. B. bei den Meßwerten der Mutante, da die Heterozygoten nur mit der Ausgangsform verglichen zu werden brauchten.

Während die Arbeiten an Chlorophyllmutanten liefen, wurden von H. ROTHE mit anderer Fragestellung in der gleichen *Antirrhinum*-Sippe Kreuzungen mit Schmalblattmutanten vorgenommen. In der F_1 ergab sich auch hier verschiedentlich eine Überlegenheit der monohybriden Bastarde gegenüber der Ausgangsform. Ich gebe im Anschluß an die Behandlung der Versuche mit Chlorophyllmutanten die ersten Messungen an der Schmalblattmutantengruppe wieder. Es ist beabsichtigt, die Versuche auch auf andere Mutantengruppen auszudehnen, da schon jetzt der Eindruck besteht, daß die Überlegenheit monohybrider Bastarde gegenüber der homozygoten Ausgangsform in diesem oder jenem Merkmal ein viel häufiger zu beobachtendes Phänomen ist als lange Zeit hindurch angenommen wurde. Sollte sich weiterhin herausstellen, daß in dihybriden Bastarden eine Steigerung des Heterosiseffektes zu erkennen ist, so ließe sich auf dieser Basis auch eine Erklärung für die Heterosis in Rassen- und Artbastarden finden in dem Sinne, daß hier ebenfalls die polygen bedingte Heterozygotie für den Effekt der Heterosis verantwortlich zu machen ist.

Reziproke Kreuzungen der Ausgangssippe mit Mutanten (monohybride Heterosis).

1. Kreuzung *A. majus* S. 50 $\times$ S. 50 mut. *lurida* und reziprok.

Beschreibung der Mutante *lurida* (nach SCHICK und STUBBE, 1934):

lu lu-Pflanzen haben leuchtend gelbgrüne Kotyledonen und Laubblätter. Die Pflanzen bleiben im Wuchs kaum gegenüber den normalen zurück. Die Keimfähigkeit ist normal, F_2 -Spaltung 116:35.

Tabelle I zeigt die Ergebnisse der Messungen und Zählungen*. In fast allen untersuchten Merkmalen sind die reziproken Bastarde der Sippe 50 gesichert überlegen. Da nur Kreuzungen einer Richtung nebst den homozygoten Ausgangsformen in einem Pikierkasten untergebracht werden konnten, wurden, wie aus der Tabelle ersichtlich, die Messungen der homozygoten Ausgangsformen (AA und aa) $2 \times$ (bezeichnet als I und II) durchgeführt. Die Zahl der Seitentriebe ist nicht vermehrt, dagegen die durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels. Abb. 1a und b zeigen die Überlegenheit der Heterozygoten im Pikierkasten, Abb. 2 die Überlegenheit der reziproken Bastarde mit fast abgeblühtem Hauptsproß und voll blühenden Seitensprossen.

* In allen Tabellen besagen die halbfett gedruckten Zahlen, daß sie gegenüber den Zahlen der vergleichbaren Kontrolle statistisch gesichert sind.

Tabelle 1. *Antirrhinum majus*

1 Nr. der Aussaat 1952	2 Kreuzungen	3 Durchschnittliche Höhe der Pflanzen bis zur Infloreszenz in cm			4 Durchschnitt- liche Länge der Inflores- zenz in cm	5 Durchschnitt- liche Gesamt- höhe in cm
		6. 6.	20. 6.	4. 7.	4. 7.	4. 7.
955 I	<i>S. 50</i> × <i>lurida</i> F ₁	13,3	22,3	24,3	16,4 ± 1,9	40,7 ± 2,6
II	<i>lurida</i> × <i>S. 50</i> F ₁	13,9	23,1	25,6	15,7 ± 1,9	41,3 ± 1,9
923 I	Sippe 50 × s	9,3	14,8	21,1	8,7 ± 4,2	29,8 ± 4,9
II	Sippe 50 × s	9,2	15,6	21,9	8,9 ± 3,9	30,9 ± 3,4
941 I	<i>lurida</i> × s	9,5	18,1	23,7	11,6	35,3
II	<i>lurida</i> × s	9,6	18,1	23,6	13,3	36,9

Abb. 1a. Kreuzung *Antirrhinum majus* *S. 50* × *S. 50* mut. *lurida*. Von links nach rechts 450 *lurida* homozygot, 472 II *lurida* × *S. 50* F₁, 432 Sippe 50 normal.Abb. 1b. Von links nach rechts: 450 *lurida* homozygot, 472 I Sippe 50 × *lurida* F₁; 432 Sippe 50 normal.Abb. 2. Kreuzung *Antirrhinum majus* *S. 50* × *S. 50* mut. *lurida*. Von links nach rechts: Sippe 50 normal, 955 I Sippe 50 × *lurida* F₁, 955 II *lurida* × *S. 50* F₁, 941 *lurida* homozygot.

S. 50 × *S. 50 mut. lurida* und reziprok.

6	7	8	9	10	11	
Durchschnittliche Gesamthöhe in cm	Durchschnittliches Aufblühdatum der 1. Blüte	Durchschnittliche Anzahl der Seitentriebe	Durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels in cm	Davon Anzahl der Seitentriebe > 5 cm in %	Durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben	
22. 7.					2. 8.	13. 8.
49,2 ± 3,3	28. 6. ± 1,3	15	15,3 ± 2,6	85,8	12,3 ± 5,8	39,9 ± 8,7
49,3	29. 6. ± 1,4	17	15,9 ± 2,8	90,0	16,3 ± 9,9	44,6 ± 7,7
41,1 ± 6,5	3. 7. ± 1,9	16	9,8 ± 2,6	71,1	1,7 ± 1,9	18,8 ± 11,5
42,4 ± 6,6	4. 7. ± 2,8	18	9,0 ± 2,7	54,7	2,1 ± 2,6	22,9 ± 10,4
44,2	2. 7.	15	14,9	81,3	18,2	32,7
45,5	2. 7.	15	13,4	88,5	7,0	35,7

Abb. 3a. Kreuzung *Antirrhinum majus S. 50* × *S. 50 mut. virescens*. Von links nach rechts: 454 *virescens* homozygot, 474 II *virescens* × *S. 50 F*₁, 434 Sippe 50 normal.Abb. 3b. Von links nach rechts: 454 *virescens* homozygot, 474 I Sippe 50 × *virescens F*₁, 434 Sippe 50 normal.2. Kreuzung *A. majus S. 50* × *S. 50 mut. virescens* und reziprok.Beschreibung der Mutante *virescens* (nach KUCKUCK und SCHICK, 1930):

Die jungen Laubblätter der *vires vires*-Pflanzen sind hellgrün, sie dunkeln schnell nach und sind dann von normal grünen Blättern nicht mehr zu unterscheiden. Lebensfähigkeit und Wüchsigkeit sind normal. *Virescens* ist völlig dominant über *virescens*. Spaltungszahlen der Mutante stehen mir nicht zur Verfügung.

Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse der Messungen und Zählungen. In allen Merkmalen sind die reziproken Bastarde der Sippe 50 gesichert überlegen. Abb. 3a und b zeigen die Überlegenheit der reziproken Bastarde im Pikierkasten über die normale Ausgangsform, Abb. 4 ihre Überlegenheit bei fast abgeblühtem Hauptspieß und beginnender Blüte der Seitenäste.

Tabelle 2. *Antirrhinum majus*

1 Nr. der Aussaat 1952	2 Kreuzungen	3 Durchschnittliche Höhe der Pflanzen bis zur Inflorescenz in cm			4 Durchschnitt- liche Länge der Inflores- cenz in cm	5 Durchschnitt- liche Gesamt- höhe in cm
		6. 6.	20. 6.	4. 7.	4. 7.	4. 7.
957 I	S. 50 × <i>virescens</i> F ₁	15,8	27,0	31,1	16,0 ± 1,9	47,3 ± 2,8
II	<i>virescens</i> × S. 50 F ₁	16,2	27,4	28,8	18,7 ± 1,9	47,4 ± 2,1
923 I	Sippe 50 × s	10,2	17,0	23,9	11,0 ± 2,9	34,9 ± 4,4
II	Sippe 50 × s	11,5	18,5	22,8	10,4 ± 4,1	33,1 ± 4,9
946 I	<i>virescens</i> × s	9,9	19,6	27,4	11,9	39,3
II	<i>virescens</i> × s	10,7	20,8	26,5	14,4	40,9

Abb. 4. Kreuzung *Antirrhinum majus* S. 50 × S. 50 mut. *virescens*. Von links nach rechts: Sippe 50 normal, 957 I S. 50 × *virescens* F₁, 957 II *virescens* × S. 50 F₁, 946 *virescens* homozygot.

Während in den Kreuzungen 1 und 2 (*lurida* und *virescens*) fast alle Meß- und Zählwerte klare Heterosiseffekte zeigen, liegen die Verhältnisse in den beiden nächsten zu beschreibenden Fällen nicht so eindeutig.

3. Kreuzung *A. majus* S. 50 × S. 50 mut. *vitellina* und reziprok.

Beschreibung der Mutante *vitellina* (nach SCHICK und STUBBE, 1932):

Die Kotyledonen und Blätter der jungen *vit vit*-Pflanzen sind goldgelb. Die Pflanzen bleiben im Wuchs stark zurück. Bei Blühbeginn gleich alter, normaler

Tabelle 3. *Antirrhinum majus* S. 50 × S. 50 mut. *vitellina* und reziprok.

1 Nr. der Aus- saat 1952	2 Kreu- zungen	3 Durch- schnittliche Höhe der Pflanzen in cm	4 Durch- schnittliche Höhe bis zur In- florescenz in cm	5 Durch- schnittliche Länge der Inflorescenz in cm	6 Durch- schnittliche Höhe bis zur In- florescenz in cm	7 Durch- schnittliche Länge der Inflorescenz in cm	8 Durch- schnittliche Gesamthöhe in cm	9 Durch- schnittliches Aufblüh- datum der 1. Blüte
		10. 6.	24. 6.	27. 6.	2. 7.	2. 7.	2. 7.	
475 I	S. 50 ×							
	<i>vitellina</i>	23,0 ± 1,2	27,2	17,5 ± 1,6	27,9	18,5 ± 1,8	46,4 ± 2,3	20. 6. ± 1,3
II	reziprok	20,7 ± 1,4	28,9	15,4 ± 3,5	29,4	16,5 ± 3,2	45,9 ± 2,6	23. 6. ± 2,8
432 I	Sippe 50	16,7 ± 1,1	29,5	8,8 ± 1,8	30,3	12,7 ± 2,4	43,0 ± 2,9	29. 6. ± 0,9
II	Sippe 50	16,5 ± 1,1	28,9	8,4 ± 2,5	29,2	12,3 ± 2,3	41,5 ± 2,6	29. 6. ± 0,9
439 I	<i>vitellina</i>	8,7	21,3	—	29,9	—	29,9	—
II	<i>vitellina</i>	9,3	21,1	—	29,3	—	29,3	—

S. 50 × *S. 50* mut. *virescens* und reziprok.

6	7	8	9	10	11	
Durchschnittliche Gesamthöhe in cm	Durchschnittliches Aufblühdatum der 1. Blüte	Durchschnittliche Anzahl der Seitentriebe	Durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels in cm	Dayon Anzahl der Seitentriebe > 5 cm in %	Durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben	
22. 7.					2. 8.	13. 8.
53,2 ± 3,0	29. 6. ± 0,8	16	15,7 ± 1,8	97,8	5,5 ± 2,6	48,7 ± 6,4
52,8 ± 2,8	27. 6. ± 1,3	17	18,0 ± 1,7	97,1	7,7 ± 4,2	47,6 ± 6,0
42,9 ± 3,4	3. 7. ± 2,4	17	9,4 ± 2,4	67,2	0,7 ± 1,2	21,8 ± 12,1
40,3 ± 6,2	1. 7. ± 1,1	18	10,2 ± 2,5	72,2	1,4 ± 1,9	28,3 ± 11,4
52,2	2. 7.	15	13,0	94,9	0,7	35,4
49,2	1. 7.	17	12,6	91,7	0,6	32,2

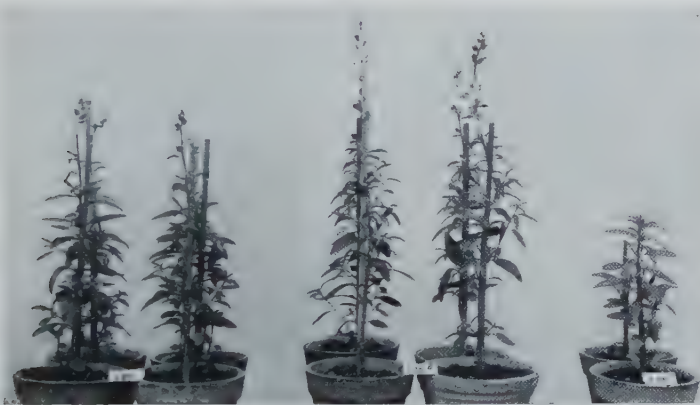


Abb. 5a. Kreuzung *Antirrhinum majus* *S. 50* × *S. 50* mut. *vitellina*. Von links nach rechts: 432 Sippe 50 normal, 475 II *vitellina* × *S. 50*, 439 *vitellina* homozygot.



Abb. 5b. Von links nach rechts: 432 *S. 50* normal, 475 I *S. 50* × *vitellina* F₁, 439 *vitellina* homozygot.

Pflanzen haben sie erst etwa 50% von deren Höhe erreicht. Blühende Pflanzen sind schwächer als normale und haben gelbgrüne Blätter. Die Lebensfähigkeit ist sehr vermindert.

Tabelle 3 zeigt für diese Mutante die Messungen und Zählungen des Jahres 1953. Für die Wuchseistung der Bastarde ergibt sich hier insofern ein bemerkenswertes Bild, als bei der ersten Messung die Bastarde beider Kreuzungsrichtungen

Tabelle 4. *Antirrhinum majus*

1 Nr. der Aussaart 1952	2 Kreuzungen	3 Durchschnittliche Höhe der Pflanzen bis zur Inflorescenz in cm			4 Durchschnitt- liche Länge der Inflores- cenz in cm	5 Durchschnitt- liche Gesamt- höhe in cm
		6. 6.	20. 6.	4. 7.	4. 7.	4. 7.
956 I	Sippe 50 $\times$ <i>luteus</i> F ₁	13,5	22,4	25,6	16,1 $\pm$ 1,2	41,7 $\pm$ 2,2
II	<i>luteus</i> $\times$ Sippe 50 F ₁	12,8	20,3	24,3	12,2 $\pm$ 2,9	36,5 $\pm$ 3,8
923 I	Sippe 50 $\times$ s	10,4	17,5	28,9	5,0 $\pm$ 3,9	33,9 $\pm$ 4,9
II	Sippe 50 $\times$ s	9,7	15,9	23,8	9,3 $\pm$ 3,6	33,1
942 I	<i>luteus</i> $\times$ s	4,1	6,4	11,7	0	11,7
II	<i>luteus</i> $\times$ s	3,9	6,4	10,6	0	10,6

den Kontrollen überlegen sind. Zwei Wochen später, in der Messung vom 24. 6., ist dieser Vorsprung der Bastarde von den Kontrollen eingeholt. Die Längenmessungen der voll erblühten Inflorescenzen einige Tage später (27. 6.) ergaben eine gesicherte Überlegenheit der Bastarde. Diese Überlegenheit bleibt für den Bastard S. 50 $\times$ *vitellina* auch in der Messung vom 2. 7. gegenüber der ihm vergleichbaren Kontrolle erhalten, in der Gesamthöhe sind jedoch die Bastarde nicht von den Kontrollen in der Messung vom gleichen Tage unterschieden. Das Aufblühdatum der ersten Blüte in den Inflorescenzen der Bastarde liegt gegenüber den Kontrollen gesichert früher. Ich diskutiere die mögliche Fehlerquelle, die zum Nachlassen des Wachstums der Bastarde geführt haben könnte, im Zusammenhang mit der folgenden Kreuzung 4. Die Abb. 5a und b zeigen die Überlegenheit der Bastarde bezüglich des Blühbeginns recht deutlich, aber auch die Gleichwertigkeit der Bastarde und der Kontrolle hinsichtlich der Wuchshöhe bis zur Inflorescenz.

4. Kreuzung *A. majus* S. 50 $\times$ S. 50 mut. *luteus* und reziprok.

Beschreibung der Mutante *luteus* (nach STUBBE, 1941):

Kotyledonen der *lut lut*-Pflanzen gelbgrün, an der Basis etwas heller, im Wuchs stark zurückbleibend, Laubblätter hell gelbgrün. Im Alter von 8 Wochen sind 40% der Höhe der Ausgangssippe erreicht. F₂-Spaltung 137:40.

Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse der Messungen und Zählungen. Gesichert sind nur noch die Werte der Spalte 4, 5 und 7 im Bastard Sippe 50 $\times$ *luteus* gegenüber der ihm vergleichbaren Kontrolle. Einige der übrigen Werte zeigen eine starke Tendenz zur Sicherung, die bei dem gemessenen Pflanzenmaterial jedoch nicht erreicht wird. Abb. 6 zeigt die Überlegenheit des Bastards S. 50 $\times$ *luteus* gegenüber der Kontrolle und die etwas geringere Wüchsigkeit des reziproken Bastards *luteus* $\times$ S. 50, die am vorliegenden Material nicht gesichert ist.

Die Kreuzungen 3 und 4 mögen genügen, um zu zeigen, daß nicht alle der von uns untersuchten Fälle in allen geprüften Merkmalen Heterosiseffekte zeigen, und daß selbst zwischen den reziproken Kreuzungen Unterschiede bestehen. Das mag einmal darauf zurückzuführen sein, daß, wie schon erwähnt, die Anzahl der gemessenen Pflanzen zu gering war, zum anderen weisen gerade diese Fälle darauf hin, daß wahrscheinlich trotz gleichmäßiger Kultur die Manifestierung des Heterosiseffektes von Umweltverhältnissen stark beeinflußt wird. Hierauf haben mehrere Autoren (s. bei HAGBERG, 1953) bereits hingewiesen. Auch auf

S. 50 × *S. 50 mut. luteus* und reziprok.

6	7	8	9	10	11	
Durchschnittliche Gesamthöhe in cm	Durchschnittliches Aufblühdatum der 1. Blüte	Durchschnittliche Anzahl der Seitentriebe	Durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels in cm	Davon Anzahl der Seitentriebe > 5 cm in %	Durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben	
22. 7.					2. 8.	13. 8.
49,6 ± 2,9	30. 6. ± 0,5	17	15,9	79,0	1,3	19,7
43,8	1. 7. ± 0,8	18	13,2	64,0	0,8	22,9
43,6 ± 6,5	7. 7. ± 3,6	21	13,1	77,1	0,4	18,8
41,1	5. 7. ± 3,3	19	13,3	67,2	0,7	24,4
19,5	blühen	19	4,5	25,3	0	0
18,6	alle noch nicht	14	6,5	36,2	0	0



Abb. 6. Kreuzung *Antirrhinum majus* *S. 50* × *S. 50 mut. luteus*. Von links nach rechts: Sippe 50 normal, 956 I *S. 50* × *luteus* F₁, 956 II *luteus* × *S. 50* F₁, 942 *luteus* homozygot.

eine weitere Fehlerquelle muß in diesem Zusammenhang aufmerksam gemacht werden. Die zu messenden Pflanzen wurden aus dem Pikierkasten in Töpfe gleicher Größe eingetopft, so daß also allen die gleiche Menge Erde zur Ernährung zur Verfügung stand. Sicherlich ist aber mit einem höheren Nährstoffverbrauch der Bastarde zu rechnen, und es kann sein, daß diese durch den allmählich einsetzenden Nährstoffmangel in den Töpfen schließlich in der Manifestierung des Heterosiseffektes gehemmt wurden, also nicht mehr die Größenzunahme zeigten, die ihnen bei ausreichender Nährstoffzufuhr möglich gewesen wäre. Man wird also, um die Heterosiswirkungen im Bastard wirklich vollkommen zu erfassen, in Zukunft noch feinere Methoden der Gleichgestaltung aller Umweltverhältnisse, wozu auch optimale Ernährungsbedingungen gehören, anwenden müssen.

5. Kreuzung *A. majus* *S. 50* × *S. 50 mut. nitens*^{const} und reziprok.

Beschreibung der Mutante *nitens*^{const} (nach STUBBE, 1941):

nit nit-Pflanzen haben ein langes und farbloses Hypokotyl, Kotyledonen goldgelb, Keimlinge stark im Wuchs zurückbleibend, Laubblätter gleichfalls

Tabelle 5. *Antirrhinum majus*

1 Nr. der Aussaatsaat 1952	2 Kreuzungen	3 Durchschnittliche Höhe der Pflanzen bis zur Inflorescenz in cm			4 Durchschnitt- liche Länge der Inflo- rescenz in cm	5 Durchschnitt- liche Gesamt- höhe in cm
		6. 6.	20. 6.	4. 7.	4. 7.	4. 7.
952 I	Sippe 50 $\times$ <i>nit</i> ^{const} F ₁	11,4	18,7	23,3	12,0	35,3 $\pm$ 2,1
II	<i>nit</i> ^{const} $\times$ S. 50 F ₁	10,3	23,7	24,3	16,0	40,3 $\pm$ 2,2
923 I	Sippe 50 $\times$ s	9,8	15,7	20,8	10,8	31,6 $\pm$ 4,4
II	Sippe 50 $\times$ s	13,3	20,2	22,2	14,8	37,0 $\pm$ 4,2
925 I	<i>nitens</i> ^{const} $\times$ s	4,9	8,9	17,3	0	17,3
II	<i>nitens</i> ^{const} $\times$ s	4,0	8,1	13,5	0	13,5

Tabelle 6. *Antirrhinum majus*

1 Nr. der Aussaatsaat 1952	2 Kreuzungen	3 Durchschnittliche Höhe der Pflanzen bis zur Inflorescenz in cm			4 Durchschnitt- liche Länge der Inflores- cenz in cm	5 Durchschnitt- liche Gesamt- höhe in cm
		6. 6.	20. 6.	4. 7.	4. 7.	4. 7.
954 I	S. 50 $\times$ <i>decipiens</i> F ₁	13,8	21,5	22,8	15,5	38,3 $\pm$ 2,8
II	<i>decipiens</i> $\times$ S. 50 F ₁	15,1	22,1	22,9	14,3	37,2 $\pm$ 3,6
923 I	Sippe 50 $\times$ s	10,7	18,1	21,3	13,1	34,4 $\pm$ 2,3
II	Sippe 50 $\times$ s	10,3	17,3	19,9	12,1	32,0 $\pm$ 3,8
935 I	<i>decipiens</i> $\times$ s	4,9	7,4	11,1	0	11,1
II	<i>decipiens</i> $\times$ s	5,4	7,8	11,7	0	11,7

goldgelb, ältere Blätter werden an den Spitzen ganz farblos. Blühende Pflanzen erreichen etwa 80% der Höhe der Ausgangssippe. F₂-Spaltungen *nit*^{const} $\times$ S. 50 = 2501:780, S. 50 $\times$ *nit*^{const} 2898:952. Außer dem konstanten Allel ist ein mutables Allel bekannt, das sich durch hohe Rückmutationsraten im generativen Gewebe auszeichnet. Beide Allele sind Glieder einer Serie multipler Allele *Nit-nit*^{mut}-*nit*^{const}.

Die Untersuchung der Bastarde dieser Kreuzung (s. Tabelle 5) hat in den Messungen des Jahres 1952 das bemerkenswerte Ergebnis eindeutiger reziproker Unterschiede der Bastarde in der durchschnittlichen Gesamthöhe (s. Spalte 5) und im durchschnittlichen Aufblühdatum erbracht (s. Spalte 7). Die Meßwerte des Bastards *nitens*^{const} $\times$ S. 50 sind in beiden Merkmalen gegenüber denen des Bastards S. 50 $\times$ *nitens*^{const} gesichert. Das Ergebnis bedarf der Bestätigung, doch sind zur Zeit die Arbeiten des Jahres 1953 noch nicht abgeschlossen und ausgewertet. Abb. 7 zeigt die Überlegenheit des Bastards *nitens*^{const} $\times$ S. 50 gegenüber dem reziproken Bastard. Die Aufnahme läßt auch erkennen, daß beide Bastarde gegenüber der Ausgangssippe im Wuchs keine Vorteile zeigen. Nur im Aufblühdatum (s. Spalte 7) ist der Bastard *nitens*^{const} $\times$ S. 50 der ihm entsprechenden Kontrolle ebenfalls überlegen.

Keinesfalls zeigen alle monohybriden und, wie noch zu zeigen sein wird, alle dihybriden Bastarde Heterosiseffekte. Als Beispiel führe ich folgende Kreuzung an:

S. 50 × *S. 50 mut nitensconst* und reziprok.

6	7	8	9	10	11
Durchschnittliche Gesamthöhe in cm	Durchschnittliches Aufblühdatum der 1. Blüte	Durchschnittliche Anzahl der Seitentriebe	Durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels in cm	Davon Anzahl der Seitentriebe > 5 cm in %	Durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben
22. 7.					
43,8 ± 4,7	1. 7. ± 0,9				
46,5	27. 6. ± 1,1				
39,3	3. 7.				
43,6	1. 7. ± 2,1				
29,9	—				
21,7	—				

S. 50 × *S. 50 mut. decipiens* und reziprok.

6	7	8	9	10	11
Durchschnittliche Gesamthöhe in cm	Durchschnittliches Aufblühdatum der 1. Blüte	Durchschnittliche Anzahl der Seitentriebe	Durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels in cm	Davon Anzahl der Seitentriebe > 5 cm in %	Durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben
22. 7.					2. 8. 13. 8.
45,1	29. 6. ± 1,4	14	15,0	54,2	35,7
42,9	28. 6. ± 1,3	17	14,9	56,1	36,6 ± 9,2
45,8	2. 7. ± 2,1	17	15,4	74,8	28,8
43,6	1. 7. ± 1,6	16	16,2	72,9	24,9 ± 12,0
23,5	blühen	18	9,9	39,6	1,1
23,0	alle noch nicht	17	9,8	32,8	3,9



Abb. 7. Kreuzung *Antirrhinum majus* *S. 50* × *S. 50 mut. nitensconst.* Von links nach rechts: Sippe 50 normal, 952 I *S. 50* × *nitensconst.* F₁, 952 II *nitensconst.* × *S. 50* F₁, 925 *nitensconst.* homozygot.

6. Kreuzung *A. majus* *S. 50* × *S. 50 mut. decipiens* und reziprok.

Beschreibung der Mutante *decipiens* (nach KUCKUCK und SCHICK, 1930): *deci deci*-Pflanzen haben hellgrüne Laubblätter. Keim- und Lebensfähigkeit der Pflanzen sind ein wenig, die Wüchsigkeit stark herabgesetzt. Spaltungszahlen liegen mir nicht vor.

Tabelle 6 zeigt das Ergebnis der Messungen und Zählungen. Im keinem der untersuchten Merkmale sind die Bastarde der normalen Ausgangssippe 50 überlegen.

Tabelle 7. *Antirrhinum majus* S. 50 mut. *virescens*

1 Nr. der Aussaat 1952	2 Kreuzungen	3			4
		Durchschnittliche Höhe der Pflanzen bis zur Inflorescenz in cm			Durchschnitt- liche Länge der Inflorescenz in cm
		6. 6.	20. 6.	4. 7.	4. 7.
972 I	<i>virescens</i> × <i>lurida</i> F ₁	23,2	25,7	25,9	24,6 ± 1,9
II	<i>lurida</i> × <i>virescens</i> F ₁	22,1	26,1	26,2	24,4 ± 1,2
923 I	Sippe 50 × s	16,9	21,3	21,9	17,0 ± 3,0
II	Sippe 50 × s	15,7	21,2	21,5	19,8 ± 1,7
946 I	<i>virescens</i> × s	16,4	23,2	23,5	16,6
II	<i>virescens</i> × s	16,8	23,3	23,6	18,3
941 I	<i>lurida</i> × s	16,5	21,8	21,9	20,8
II	<i>lurida</i> × s	16,6	21,5	21,6	20,7

Abb. 8a. Kreuzung *Antirrhinum majus* S. 50 mut. *virescens* × S. 50 mut. *lurida*. Von links nach rechts: 450 *lurida* homozygot, 434 S. 50 normal, 491 II *lurida* × *virescens* F₁, 454 *virescens* homozygot.Abb. 8b. Von links nach rechts: 450 *lurida* homozygot, 434 S. 50 normal, 491 I *virescens* × *lurida* F₁, 454 *virescens* homozygot.

Reziproke Kreuzungen von Mutanten untereinander (dihybride Heterosis).

1. Kreuzung *A. majus* S. 50 mut. *virescens* × S. 50 mut. *lurida* und reziprok.

Beschreibung der Mutante *virescens* s. S. 455.

Beschreibung der Mutante *lurida* s. S. 453.

Die Kreuzung bestätigt eindeutig den schon in den monohybriden Bastarden beider Mutanten beobachteten Heterosiseffekt. Er ist in allen untersuchten Merkmalen, wie Tabelle 7 nachweist, vorhanden, mit Ausnahme der durchschnittlichen Anzahl der Seitentriebe je Pflanze, die in keinem der bisher besprochenen Bastarde eine Vermehrung gegenüber der normalen Ausgangsform zeigte. Die wichtige Frage, ob eine Addition der Heterosiseffekte der monohybriden Bastarde im dihybriden Bastard der gleichen Mutanten erfolgt, kann

× *S. 50 mut. lurida* und reziprok.

5	6	7	8	9	10	
Durchschnittliche Gesamthöhe in cm	Durchschnittliches Aufblühdatum der 1. Blüte	Durchschnittliche Anzahl der Seitentriebe	Durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels in cm	Davon Anzahl der Seitentriebe > 5 cm in %	Durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben	
4. 7.					1. 8.	8. 8.
50,5 ± 2,2	18. 6. ± 0,9	13	15,5 ± 1,5	96,3	15,1 ± 4,5	38,5 ± 4,7
50,6 ± 1,8	20. 6. ± 1,2	14	15,8 ± 1,5	97,1	17,3 ± 4,0	35,8 ± 5,2
38,9 ± 3,4	24. 6. ± 3,8	17	6,8 ± 1,4	34,6	0	10,9 ± 7,9
41,3 ± 2,2	25. 6. ± 2,1	15	5,9 ± 1,6	34,8	0	10,7 ± 9,0
40,1	25. 6.	12	10,8	93,5	2,4	25,6
41,9	24. 6.	12	9,9	68,3	3,2	21,8
42,7	22. 6.	14	13,4	91,5	14,2	28,6
42,3	22. 6.	12	11,2	95,2	5,9	22,4



Abb. 9a. Kreuzung *Antirrhinum majus* *S. 50 mut. virescens* × *S. 50 mut. lurida*. Von links nach rechts: 454 *virescens* homozygot, 434 *S. 50* normal, 491 II *lurida* × *virescens* F₁, 450 *lurida* homozygot.

vorläufig nicht entschieden werden, da die ermittelten Werte trotz gleichzeitiger Aussaat, gleicher Kultur und gleicher Meßtage erheblich schwanken. Ich werde bei der Besprechung der Gesamtergebnisse auf diese Frage weiter eingehen.

Die Abb. 8a und b lassen die Überlegenheit der jungen dihybriden Bastarde im Wuchs gegenüber der normalen Ausgangsform und den beiden Mutanten eindeutig erkennen. Das gleiche ergibt sich aus den Abb. 9a und b, welche die Bastarde, die normale Ausgangsform und die Mutanten in einem späteren Entwicklungsstadium zeigt, in dem die Hauptsprosse der Bastarde bereits in voller Blüte stehen.

2. Kreuzung *A. majus* *S. 50 mut. luteus* × *S. 50 mut. vitellina* und reziprok.

Beschreibung der Mutante *luteus* s. S. 458.

Beschreibung der Mutante *vitellina* s. S. 456.

Wie aus Tabelle 8 ersichtlich ist, besteht für fast alle gemessenen Merkmale, mit Ausnahme des Aufblühdats der ersten Blüte, eine starke Tendenz zur Überlegenheit bei den Bastarden gegenüber der normalen Sippe 50. Für den Bastard *vitellina* × *luteus* ist die durchschnittliche Länge der Infloreszenz (s. Spalte 4) und die durchschnittliche Gesamthöhe gegenüber der ihm vergleichbaren Kontrolle gesichert. Für beide Bastarde sind auch die Werte für die

Tabelle 8. *Antirrhinum majus* S. 50 mut. *luteus*

1	2	3			4
Nr. der Aussaat 1952	Kreuzungen	Durchschnittliche Höhe der Pflanzen bis zur Inflorescenz in cm			Durchschnitt- liche Länge der Inflorescenz in cm
		6. 6.	20. 6.	4. 7.	4. 7.
969 I	<i>luteus</i> × <i>vitellina</i> F ₁	23,9	26,9	27,1	22,2 ± 2,4
II	<i>vitellina</i> × <i>luteus</i> F ₁	23,9	27,5	27,5	22,2 ± 1,6
923 I	Sippe 50 × s	19,8	25,0	25,0	18,1 ± 4,9
II	Sippe 50 × s	20,9	24,1	24,2	19,0 ± 1,0
942 I	<i>luteus</i> × s	4,9	7,2	9,9	0
II	<i>luteus</i> × s	4,7	6,3	8,1	0
947 I	<i>vitellina</i> × s	8,7	15,2	22,2	3,8
II	<i>vitellina</i> × s	8,2	14,1	21,5	2,4

Abb. 9b. Von links nach rechts: 454 *virescens* homozygot, 434 S. 50 normal, 491 I *virescens* × *lurida* F₁, 450 *lurida* homozygot.Abb. 10a. Kreuzung *Antirrhinum majus* S. 50 mut. *luteus* × S. 50 mut. *vitellina*. Von links nach rechts: 439 *vitellina* homozygot, 434 S. 50 normal, 489 II *vitellina* × *luteus* F₁, 451 *luteus* homozygot.

durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels (s. Spalte 8) und für die Prozentsätze der Anzahl der Seitentriebe > 5 cm (s. Spalte 9) gesichert. Die letzte Feststellung der Blütenanzahl an den Seitentrieben vom 8. 8. (siehe Spalte 10) zeigt im Falle des Bastards *vitellina* × *luteus* ebenfalls eindeutige Sicherung, in der reziproken Kreuzung eine starke Tendenz hierzu. Die Abb. 10a

Tabelle 9. *Antirrhinum majus* S. 50 mut. *chiono-*

1 Nr. der Aussaat 1952	2 Kreuzungen	3			4
		Durchschnittliche Höhe der Pflanzen bis zur Inflorescenz in cm			Durchschnitt- liche Länge der Inflorescenz in cm
		6. 6.	20. 6.	4. 7.	4. 7.
965 I	<i>chionocaulis</i> × <i>virescens</i> F ₁	19,3	26,6	27,9	23,8 ± 3,8
II	<i>virescens</i> × <i>chionocaulis</i> F ₁	26,4	29,4	29,4	26,1 ± 1,8
923 I	Sippe 50 × s	19,4	24,6	24,6	21,8
II	Sippe 50 × s	20,6	26,7	26,7	21,6 ± 1,5
933 I	<i>chionocaulis</i> × s	15,8	21,2	21,6	9,1
II	<i>chionocaulis</i> × s	15,2	19,3	20,4	5,5
946 I	<i>virescens</i> × s	13,3	19,5	20,8	17,9
II	<i>virescens</i> × s	13,4	20,1	23,8	11,9

Abb. 12. Kreuzung *Antirrhinum majus* S. 50 mut. *chionocaulis* × S. 50 mut. *virescens*. Von links nach rechts: 933 *chionocaulis* homozygot, 965 *Ichionocaulis* × *virescens* F₁, S. 50 normal, 965 II *virescens* × *chionocaulis* F₁, 946 *virescens* homozygot.3. Kreuzung *A. majus* S. 50 mut. *chionocaulis* × S. 50 mut. *virescens* und reziprok.

Beschreibung der Mutante *virescens* s. S. 455.

Beschreibung der Mutante *chionocaulis* (nach SCHICK und STUBBE, 1934):

chi chi-Pflanzen haben Kotyledonen mit gelbgrünen Spitzen. Das erste Blattpaar erscheint später als bei normalen Pflanzen. Die Laubblätter sind schmaler und länger, sie sind gelbgrün mit gelben Adern. Der Stiel der Inflorescenz, die Blütenstielchen und die Samenkapseln sind fast rein weiß. Der Chlorophyllverlust tritt erst in Erscheinung, wenn die Blüten völlig entwickelt sind. Hierdurch und durch eine gleichzeitig auftretende Stauchung erhält die Inflorescenz ein charakteristisches Aussehen. Trotz guten Samenansatzes gehen die Kapseln wegen einer starken *Botrytis*-Anfälligkeit oft zugrunde. F₂-Spaltung 34:6.

Ob bei der Mutante *chionocaulis* auch ein monogen bedingter Heterosiseffekt vorliegt, konnte noch nicht geprüft werden. Einige andere dihybride Kombinationen (s. unten) mit *chionocaulis* lassen keinen Heterosiseffekt erkennen, so daß er im vorliegenden Fall lediglich von der Mutante *virescens* zu kommen scheint. Tabelle 9 gibt die Meß- und Zählwerte der Mutante und ihrer Kombinationen

caulis $\times$ *S. 50 mut. virescens* und reziprok.

5	6	7	8	9	10	
Durchschnittliche Gesamthöhe in cm	Durchschnittliches Aufblühdatum der 1. Blüte	Durchschnittliche Anzahl der Seitentriebe	Durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels in cm	Davon Anzahl der Seitentriebe > 5 cm in %	Durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben	
4. 7.					1. 8.	8. 8.
51,7 $\pm$ 3,4	25. 6.	13	12,2 $\pm$ 2,2	89,1	10,5 $\pm$ 4,6	29,8 $\pm$ 8,2
55,5 $\pm$ 2,2	19. 6. $\pm$ 1,0	13	11,5 $\pm$ 1,3	90,5	7,9 $\pm$ 3,9	27,2 $\pm$ 4,6
46,5 $\pm$ 3,2	22. 6.	16	5,6 $\pm$ 0,8	30,1	1,1 $\pm$ 1,4	9,5 $\pm$ 7,0
48,3 $\pm$ 2,1	23. 6. $\pm$ 1,9	16	5,4 $\pm$ 0,9	40,5	0,1 $\pm$ 0,5	5,0 $\pm$ 4,8
30,7	27. 6.	11	8,1	39,7	0,1	5,4
25,9	27. 6.	12	7,8	50,0	0	0,9
38,7	26. 6.	12	6,7	81,7	0,1	21,8
35,7	29. 6.	13	6,2	86,6	0	23,3

wieder. Im Bastard *virescens* $\times$ *chionocaulis* sind die Werte für durchschnittliche Länge der Inflorescenz, durchschnittliche Gesamthöhe und durchschnittliches Aufblühdatum der 1. Blüte (s. Spalte 4—6), gegenüber der vergleichbaren Kontrolle gesichert. In beiden Bastarden zeigen die Werte für die durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels, für die Anzahl der Seitentriebe > 5 cm und für die durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben statistische Sicherung. Die Abb. 12 läßt die Überlegenheit der Bastarde gegenüber der normalen Ausgangssippe an Pflanzen, deren Hauptsproß fast völlig abgeblüht ist, deutlich erkennen.

4. Kreuzung *A. majus S. 50 mut. lurida* $\times$ *S. 50 mut. meline* und reziprok.

Beschreibung der Mutante *lurida* s. S. 453.

Beschreibung der Mutante *meline* (nach SCHICK und STUBBE, 1932):

Die Kotyledonen und die ersten Laubblattpaare der *mel mel*-Pflanzen sind zunächst goldgelb. Sie ergrünen dann von der Basis her. Die Pflanzen bleiben im Wuchs nur wenig gegenüber den Kontrollen zurück. Blühende Pflanzen sind im Laub etwas heller, sonst normal. Keimfähigkeit der Samen ebenfalls normal. $F_2 = 558:186$.

Tabelle 10 mit den Meß- und Zählwerten dieser Bastarde läßt erkennen, daß beide Bastarde in den wesentlichen Merkmalen, durchschnittliche Länge der Inflorescenz (Spalte 4), durchschnittliche Gesamthöhe (Spalte 5), Anzahl der Seitentriebe > 5 cm (Spalte 10), den normalen Pflanzen der *S. 50* gesichert überlegen sind. Im durchschnittlichen Aufblühdatum sind die Bastarde gegenüber den Kontrollen hier nicht bevorzugt. In der durchschnittlichen Länge der längsten Seitensprosse jedes Wirtels ist nur der Bastard *meline* $\times$ *lurida* der ihm vergleichbaren Kontrolle gegenüber gesichert. Ob der Heterosiseffekt in diesem Falle von beiden Mutanten kommt, kann noch nicht entschieden werden, da die Mutante *meline* bisher nicht als monohybrider Bastard geprüft wurde. Für *lurida* ist der monogene Heterosiseffekt klar bewiesen (s. Tabelle 1). Ich verzichte darauf, die Heterosiseffekte in den Bastarden *lurida* $\times$ *meline* im Bild zu zeigen.

Während die bisher geschilderten dihybriden Bastarde von Mutanten der Sippe 50 von *Antirrhinum majus* fast alle an den wesentlichen gemessenen und gezählten Merkmalen eine Überlegenheit gegenüber der Kontrolle zeigten, gibt es auch Fälle, in denen nur einzelne Merkmale eine gesteigerte Leistung aufweisen,

Tabelle 10. *Antirrhinum majus* S. 50 mut. *lurida*

1 Nr. der Aussaart 1952	2 Kreuzungen	3 Durchschnittliche Höhe der Pflanzen bis zur Inflorescenz in cm			4 Durchschnitt- liche Länge der Inflorescenz in cm
		6. 6.	20. 6.	4. 7.	4. 7.
968 I	<i>lurida</i> × <i>meline</i> F ₁	25,9	28,2	28,2	25,4 ± 1,6
II	<i>meline</i> × <i>lurida</i> F ₁	22,1	25,7	25,9	22,5 ± 1,1
923 I	Sippe 50 × s	24,4	26,3	26,3	18,4 ± 2,2
II	Sippe 50 × s	20,7	23,4	23,8	18,6 ± 2,2
941 I	<i>lurida</i> × s	14,3	21,1	23,0	14,7
II	<i>lurida</i> × s	15,2	21,9	22,9	18,3
943 I	<i>meline</i> × s	13,2	17,6	18,8	11,8
II	<i>meline</i> × s	12,8	17,5	19,8	12,5

Tabelle 11. *Antirrhinum majus* S. 50 mut. *mar-*

1 Nr. der Aussaart 1952	2 Kreuzungen	3 Durchschnittliche Höhe der Pflanzen bis zur Inflorescenz in cm			4 Durchschnitt- liche Länge der Inflorescenz in cm
		6. 6.	20. 6.	4. 7.	4. 7.
958 I	<i>marmorata</i> × <i>vitellina</i> F ₁	22,1	26,8	27,1	23,9 ± 1,2
II	<i>vitellina</i> × <i>marmorata</i> F ₁	20,6	26,3	26,4	20,9
923 I	Sippe 50 × s	14,7	21,7	22,6	18,8 ± 3,5
II	Sippe 50 × s	15,3	23,3	23,7	18,8 ± 2,0
926 I	<i>marmorata</i> × s				10,9
II	<i>marmorata</i> × s				12,7
928 I	<i>vitellina</i> × s				0
II	<i>vitellina</i> × s				0

bis hin zu jenen, die wir schon bei der Besprechung der monohybrid bedingten Heterosis kennenlernten (s. mut. *decipiens*, Tabelle 6), wo überhaupt kein Heterosiseffekt mehr zu ermitteln ist. Wir können damit schon hier feststellen, daß nicht alle als Gene oder Allele bezeichneten Einheiten befähigt sind, in heterozygotem Zustand eine solche Stimulationswirkung zu entfalten. Diese Tatsache entspricht durchaus den Erfahrungen an anderen Objekten, vor allem aber auch den langjährigen züchterischen Erfahrungen zur wirtschaftlichen Ausnutzung der Bastardwüchsigkeit.

5. Kreuzung *A. majus* S. 50 mut. *marmorata* × S. 50 mut. *vitellina* und reziprok.

Beschreibung der Mutante *vitellina* s. S. 456.

Beschreibung der Mutante *marmorata* (nach KUCKUCK und SCHICK, 1930):

Laubblätter weißlich und grau gescheckt auf grünem Grunde, hin und wieder deformiert. Scheckung innerhalb einer Pflanze unregelmäßig. Junge Sprosse und Blattspitzen oft anthozyanreich. Im Wuchs zurückbleibend. F₂-Spaltung = 297:95, Rückkreuzung 47:37.

Wie Tabelle 11 zeigt, sind die durchschnittliche Länge der Inflorescenz und die durchschnittliche Gesamthöhe (Spalte 4 und 5) der Kreuzung *marmorata* × *vitellina* gegenüber der Kontrolle I gesichert. In der reziproken Kreuzung ist nur

$\times S. 50$ mut. meline und reziprok.

5 Durchschnittliche Gesamthöhe in cm 4. 7.	6 Durchschnittliches Aufblühdatum der 1. Blüte	7 Durchschnittliche Anzahl der Seitentriebe	8 Durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels in cm	9 Davon Anzahl der Seitentriebe > 5 cm in %	10 Durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben	
					1. 8.	8. 8.
53,6 $\pm$ 1,9	17. 6.	13	9,4 $\pm$ 1,8	87,9	4,5	18,3 $\pm$ 5,5
48,4 $\pm$ 1,9	19. 6.	15	9,2 $\pm$ 1,2	72,1	2,6	13,2 $\pm$ 4,1
44,7 $\pm$ 2,3	18. 6.	16	6,6 $\pm$ 1,2	37,1	0,1	8,9 $\pm$ 5,0
42,4 $\pm$ 2,8	21. 6.	17	5,6 $\pm$ 1,1	28,9	0	4,3 $\pm$ 3,2
37,7	27. 6.	14	9,1	89,2	1,6	17,8
41,2	26. 6.	15	12,5	90,8	14,1	30,7
30,6	28. 6.	13	8,3	71,0	0	5,2
32,3	29. 6.	16	6,7	46,4	0,2	3,4

 $\text{morata} \times S. 50$ mut. vitellina und reziprok.

5 Durchschnittliche Gesamthöhe in cm 4. 7.	6 Durchschnittliches Aufblühdatum der 1. Blüte	7 Durchschnittliche Anzahl der Seitentriebe	8 Durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels in cm	9 Davon Anzahl der Seitentriebe > 5 cm in %	10 Durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben	
					1. 8.	8. 8.
51,0 $\pm$ 1,4	19. 6. $\pm$ 1,4	15	15,6	84,2	1,7	8,6
47,7 $\pm$ 1,8	20. 6. $\pm$ 1,1	16	15,2	72,9	4,2	19,8 $\pm$ 5,9
41,4 $\pm$ 4,0	25. 6. $\pm$ 2,6	16	12,6	66,9	0,7	5,0
42,8 $\pm$ 3,2	25. 6. $\pm$ 1,6	16	15,3	76,8	0,7	6,7 $\pm$ 7,8
35,2	1. 7.	14	12,0	49,2	2,4	9,9
37,2	1. 7.	16	10,9	46,6	0,2	4,6
17,9	am 11. 7.	17	8,3	48,1	0	1,8
14,9	blühen noch nicht alle	17	7,1	51,9	0	1,0

noch eine Tendenz zur Sicherung für beide Merkmale erkennbar. Das durchschnittliche Aufblühdatum der reziproken Bastarde liegt mit statistischer Sicherung früher als das der beiden Kontrollen. Alle übrigen Merkmale, also durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels, die Anzahl der Seitentriebe > 5 cm, die durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben, zeigen keine einwandfreie Überlegenheit gegenüber den Kontrollen.

6. Kreuzung *A. majus* *S. 50* mut. *fulva* $\times$ *S. 50* mut. *laxa* und reziprok.

Beschreibung der Mutante *fulva* (nach SCHICK und STUBBE, 1934):

ful ful-Pflanzen haben hellgrüne, an der Basis etwas hellere Kotyledonen. Die jungen Laubblätter sind ebenfalls gelbgrün. Die Pflanzen bleiben im Wuchs kaum zurück. Blühend sind sie in Wuchs und Farbe von den normalen kaum zu unterscheiden. Die Keimfähigkeit ist normal. F_2 -Spaltung = 98:33.

Beschreibung der Mutante *laxa* (nach SCHICK und STUBBE, 1932):

Die Kotyledonen der *lax lax*-Pflanzen sind in der Mitte graugrün, ihre Ränder sind normal grün, aber nach oben eingerollt. Dadurch erhalten die Pflanzen ein welkes Aussehen. Sie bleiben im Wuchs zurück, ihre Keimfähigkeit ist vermindert. F_2 -Spaltung = 5346:1591, Rückkreuzung = 3187:2857.

Tabelle 12. *Antirrhinum majus* S. 50 mut.

1 Nr. der Aussaat 1952	2 Kreuzungen	3 Durchschnittliche Höhe der Pflanzen bis zur Inflorescenz in cm			4 Durchschnitt- liche Länge der Inflorescenz in cm
		6. 6.	20. 6.	4. 7.	4. 7.
976 I	<i>fulva</i> × <i>laxa</i> F ₁	21,0	24,2	24,2	20,7 ± 1,5
II	<i>laxa</i> × <i>fulva</i> F ₁	22,0	24,4	24,5	22,4 ± 1,4
923 I	Sippe 50 × s	17,7	21,1	21,2	15,7 ± 2,6
II	Sippe 50 × s	18,0	22,5	22,5	18,9 ± 3,4
938 I	<i>fulva</i> × s	18,9	23,8	23,9	23,0
II	<i>fulva</i> × s	18,4	23,6	24,1	18,8
940 I	<i>laxa</i> × s	19,2	21,1	21,1	15,2
II	<i>laxa</i> × s	15,5	18,7	18,8	13,2

Tabelle 13. *Antirrhinum majus* S. 50 mut. *venae*

1 Nr. der Aussaat 1952	2 Kreuzungen	3 Durchschnittliche Höhe der Pflanzen bis zur Inflorescenz in cm			4 Durchschnitt- liche Länge der Inflorescenz in cm
		6. 6.	20. 6.	4. 7.	4. 7.
971 I	<i>venae virides</i> × <i>meline</i> F ₁	22,6	24,5	24,6	22,2
II	<i>meline</i> × <i>venae virides</i> F ₁	20,3	23,4	23,5	20,8
923 I	Sippe 50 × s	19,6	22,1	22,1	19,8
II	Sippe 50 × s	18,2	21,9	22,5	19,5
945 I	<i>venae virides</i> × s	8,9	14,4	19,1	5,9
II	<i>venae virides</i> × s	9,6	13,2	18,0	4,8
943 I	<i>meline</i> × s	16,8	20,8	20,9	17,4
II	<i>meline</i> × s	16,8	21,2	21,3	17,6

Auch in dieser Kreuzung sind nur noch einige der untersuchten Merkmale, wie Tabelle 12 zeigt, in den Bastarden den Kontrollen überlegen. So die durchschnittliche Gesamthöhe (s. Spalte 5), die in beiden Bastarden gegenüber den Kontrollen gesicherte Werte aufweist. Die durchschnittliche Länge der Inflorescenz ist dagegen nur noch im Bastard *fulva* × *laxa*, das durchschnittliche Aufblühdatum der 1. Blüte nur noch im Bastard *laxa* × *fulva* überlegen, während die reziproken Bastarde in beiden Merkmalen zwar eine Tendenz zur Sicherung zeigen, sie jedoch bei dem Umfang des untersuchten Materials nicht erreichen. Alle übrigen Werte sind gegenüber den Kontrollen ohne statistische Sicherung, wenngleich auch bei den längsten Seitensprossen und der durchschnittlichen Blütenanzahl an den Seitentrieben eine Tendenz zur Vermehrung dieser Organe in den Bastarden zum Ausdruck kommt.

7. Kreuzung *A. majus* S. 50 mut. *venae virides* × S. 50 mut. *meline* und reziprok.

Beschreibung der Mutante *meline* s. S. 467.

Beschreibung der Mutante *venae virides* (nach STUBBE, 1941):

Kotyledonen der *vevi vevi*-Pflanzen graugrün, an der Basis etwas heller. Laubblätter klein, verwaschen gelbgrün, unregelmäßig gefleckt mit deutlich hervortretenden gelblich grünen Adern. Die Pflanzen bleiben im Wuchs zurück und erreichen im Alter von 8 Wochen etwa 40% der Höhe der Ausgangssippe.

fulva × *S. 50 mut. laxa* und reziprok.

5	6	7	8	9	10
Durchschnittliche Gesamthöhe in cm	Durchschnittliches Aufblühdatum der 1. Blüte	Durchschnittliche Anzahl der Seitentriebe	Durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels in cm	Davon Anzahl der Seitentriebe > 5 cm in %	Durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben
4. 7.					27. 8.
44,9 ± 1,8	20. 6. ± 1,9	15	23,9 ± 3,3	94,4	65,3 ± 14,5
46,9 ± 1,8	18. 6. ± 0,9	15	23,2	94,4	60,1 ± 12,6
36,8 ± 4,7	22. 6. ± 2,8	15	18,0 ± 5,9	77,8	53,2
41,4 ± 3,3	21. 6. ± 1,3	15	18,7 ± 6,2	78,1	49,2
46,9	23. 6.	15	29,7	98,7	51,5
42,9	25. 6.	14	25,1	93,1	40,0
36,3	18. 6.	14	15,5	84,6	40,1
32,0	22. 6.	12	12,1	56,1	20,4

virides × *S. 50 mut. meline* und reziprok.

5	6	7	8	9	10
Durchschnittliche Gesamthöhe in cm	Durchschnittliches Aufblühdatum der 1. Blüte	Durchschnittliche Anzahl der Seitentriebe	Durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels in cm	Davon Anzahl der Seitentriebe > 5 cm in %	Durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben
4. 7.					2. 8. 12. 8.
46,8 ± 2,3	18. 6.	15	20,4 ± 2,8	94,6	2,8 27,5 ± 9,5
44,3 ± 1,2	20. 6.	14	19,8	87,8	2,4 25,8
41,9 ± 2,7	20. 6.	15	15,8 ± 3,5	75,4	0,7 16,0 ± 11,9
42,0 ± 3,3	22. 6.	15	15,4 ± 3,9	72,6	1,0 21,5
25,0	4. 7.	16	14,4	90,4	0,2 10,1
22,8	5. 7.	17	13,7	82,3	0 7,0
38,3	23. 6.	14	17,1	72,9	0,1 6,3
38,9	23. 6.	14	16,2	71,8	1,3 8,7

Tabelle 13 gibt die Ergebnisse der Messungen und Zählungen wieder. Es zeigt sich, daß in den Bastarden dieser Kreuzung keines der untersuchten Merkmale gegenüber den Kontrollen mit statistischer Sicherung unterschieden ist. Da die Mutante *meline* schon in der auf Tabelle 10 ausgewerteten Kreuzung geprüft wurde, in der Bastarde mit der Mutante *lurida* untersucht wurden, ist anzunehmen, daß die Heterosiseffekte in diesen Bastarden lediglich durch die Mutante *lurida* bedingt sind, die ja einen starken monogen bedingten Heterosiseffekt bewirkt (s. Tabelle 1). Man könnte aber auch erwägen, daß die Mutante *venae virides* in heterozygotem Zustand die Wirkung des Allels *meline* unterdrückt. Da über das Zusammenspiel von Mutanten in heterozygotem Zustand so gut wie nichts bekannt ist, muß eine Entscheidung hierüber vorläufig noch offenbleiben. Ein ganz ähnliches Bild ergibt sich aus der folgenden letzten Mutantenkreuzung, die hier erwähnt werden soll.

8. Kreuzung *A. majus S. 50 mut. venae virides* × *S. 50 mut. chionocaulis* und reziprok.

Beschreibung der Mutante *venae virides* s. S. 470.

Beschreibung der Mutante *chionocaulis* s. S. 466.

Die Meß- und Zählergebnisse zeigt Tabelle 14. Da bei der durchschnittlichen Länge der Inflorescenz, der durchschnittlichen Gesamthöhe und dem

Tabelle 14. *Antirrhinum majus* S. 50 mut. *venae*

1 Nr. der Aussa 1952	2 Kreuzungen	3 Durchschnittliche Höhe der Pflanzen bis zur Inflorescenz in cm			4 Durchschnitt- liche Länge der Inflorescenz in cm
		6. 6.	20. 6.	4. 7.	4. 7.
977 I	<i>venae virides</i> × <i>chionocaulis</i> F ₁	22,6	23,9	23,9	20,0
II	<i>chionocaulis</i> × <i>venae virides</i> F ₁	19,1	22,4	22,3	18,3
923 I	Sippe 50 × s	21,5	22,6	22,6	17,8
II	Sippe 50 × s	18,8	20,9	20,9	18,2
945 I	<i>venae virides</i> × s	9,8	15,9	18,8	6,2
II	<i>venae virides</i> × s	9,4	15,1	18,2	6,0
933 I	<i>chionocaulis</i> × s	13,4	17,2	17,9	6,3
II	<i>chionocaulis</i> × s	15,0	18,8	18,8	7,4

Tabelle 15. *Antirrhinum majus* S. 50 × S. 50

1 Nr. der Aussaat 1952	2 Kreuzungen	3	4	5
		Durchschnittliche Höhe der Pflanzen in cm 10. 6.	Durchschnittliche Höhe bis zur Inflorescenz in cm 24. 6.	Durchschnittliche Länge der Inflorescenz in cm 27. 6.
479 I	S. 50 × Schmalblatt XXV	24,6 ± 0,5	35,6 ± 2,5	13,6 ± 2,5
II	reziprok	22,2 ± 1,0	36,7 ± 2,1	12,2 ± 2,1
432 I	Sippe 50	15,3 ± 1,0	30,8 ± 1,8	5,8 ± 1,6
II	Sippe 50	14,3 ± 1,2	30,0 ± 3,2	5,4 ± 2,5
467 I	Schmalblatt XXV	11,1	22,3	nicht gemessen
II	Schmalblatt XXV	10,5	21,6	nicht gemessen

durchschnittlichen Aufblühdatum der 1. Blüte keinerlei gesicherte Unterschiede gegenüber den Kontrollen gefunden wurden und auch die übrigen Merkmale (Seitensprosse und Blütenzahl) keine auffälligen Abweichungen erkennen ließen, wurden die Messungen für die Merkmale der Spalten 8—10 eingestellt.

Die Mutante *chionocaulis* wurde bereits in der Kombination mit der Mutante *virescens* (s. Tabelle 9) im F₁-Bastard geprüft. Auch hier müssen wir zunächst schließen, daß die Heterosiseffekte der Tabelle 9 nur durch die Mutante *virescens* bedingt sind, die ja ebenfalls einen klaren monogen bedingten Effekt in der Tabelle 2 gezeigt hatte. Im monohybriden Heterosisversuch konnte die Mutante *chionocaulis* ebenso wie die Mutante *venae virides* bisher nicht geprüft werden. Es muß dies nachgeholt werden.

Kreuzungen mit Schmalblattmutanten.

Wie schon erwähnt, hat H. ROTHE eine große Anzahl von Schmalblattmutanten im Jahre 1951 miteinander und mit der Ausgangssippe 50 gekreuzt und bei den F₁-Bastarden im Jahre 1952 den Blühbeginn verfolgt. Dabei zeigte sich als vorläufiges Ergebnis, daß im dihybriden Bastard (Mutante × Mutante) in allen von ROTHE durchgeführten Kombinationen der Blühbeginn 10—14 Tage früher liegt als bei den Eltern und der Ausgangssippe 50. Dieses Ergebnis bedarf einer eingehenden Prüfung an großem Material. Erste Hinweise jedoch für die Richtigkeit der Beobachtungen ROTHES ergaben Messungen und Zählungen an einzelnen Kombinationen, die im Jahre 1953 durchgeführt wurden. Ich führe als

virides $\times$ *S. 50 mut. chionocaulis* und reziprok.

5	6	7	8	9	10
Durchschnittliche Gesamthöhe in cm	Durchschnittliches Aufblühdatum der 1. Blüte	Durchschnittliche Anzahl der Seitentriebe	Durchschnittliche Länge der längsten Seitentriebe jedes Wirtels in cm	Davon Anzahl der Seitentriebe > 5 cm in %	Durchschnittliche Blütenanzahl an den Seitentrieben
4. 7.					
43,9	17. 6.				
40,6	21. 6.				
40,4	17. 6.				
39,1	19. 6.				
25,0	3. 7.				
24,2	4. 7.				
24,2	28. 6.				
26,2	26. 6.				

mut. Schmalblatt XXV und reziprok.

6	7	8	9
Durchschnittliche Höhe bis zur Inflorescenz in cm	Durchschnittliche Länge der Inflorescenz in cm	Durchschnittliche Gesamthöhe in cm	Durchschnittliches Aufblühdatum der 1. Blüte
2. 7.	2. 7.	2. 7.	
35,8 $\pm$ 2,6	14,5 $\pm$ 2,5	50,3 $\pm$ 2,2	24. 6. $\pm$ 2,2
37,0 $\pm$ 2,5	14,3 $\pm$ 2,3	51,3 $\pm$ 2,8	26. 6. $\pm$ 1,7
32,7 $\pm$ 2,2	11,3 $\pm$ 1,9	43,9 $\pm$ 2,6	30. 6. $\pm$ 0,7
32,1 $\pm$ 3,6	11,7 $\pm$ 2,5	43,8 $\pm$ 4,5	1. 7. $\pm$ 1,8
23,8	11,3	35,1	1. 7.
23,6	8,7	32,2	1. 7.

Beispiel das Ergebnis einer Kreuzung Schmalblattmutante $\times$ Ausgangssippe 50 aus dem Jahre 1953 an:

Kreuzung A. majus S. 50 $\times$ *S. 50 mut. Schmalblatt XXV*.

Die Formen der großen Gruppe der Schmalblattmutanten konnten bisher nur zum Teil beschrieben und benannt werden, da sie in ihrem Phänotyp größtenteils sehr ähnlich, genetisch dennoch verschieden sind. Um sie zu kennzeichnen, wurden viele von ihnen nur mit dem Wort Schmalblatt und einer römischen Ziffer versehen. Sie alle zeichnen sich durch eine Verschmälerung der Laubblätter aus, die oft, jedoch nicht immer, schon an einer Verschmälerung der Kotyledonen erkennbar wird. Im Wuchs bleiben sie meist hinter den Kontrollen zurück, ihre Fertilität ist im Durchschnitt normal.

Die Tabelle 15 zeigt eindeutig eine statistisch gesicherte Überlegenheit der reziproken Bastarde in allen wesentlichen Merkmalen. Die Messungen am 10. 6., 24. 6. und 27. 6. der Höhe der Pflanzen und der Länge ihrer Infloreszenzen sind bei den Bastarden gegenüber beiden Kontrollen gesichert. Dasselbe gilt für die Messung der Gesamthöhe am 2. 7. und für das Aufblühdatum der 1. Blüte bei den Bastarden. Abb. 13 zeigt die starke Überlegenheit der Bastarde gegenüber den Kontrollen im Pikierkasten, Abb. 14 die Überlegenheit der Bastarde mit fast voll erblühtem Hauptsproß.

Mit den vorstehend genannten Tatsachen wurde ein Ausschnitt aus dem mir jetzt vorliegenden Material gegeben. Bei der autogamen Species *Antirrhinum*

majus L. treten nach Kreuzung von Mutanten der seit Jahren ingezüchteten Sippe 50 mit der Ausgangssippe oder nach Kreuzungen von Mutanten dieser Sippe untereinander klare Heterosiseffekte auf, die eine gesteigerte Bastardwüchsigkeit bedingen. Bei sonst gleichbleibendem genotypischem Milieu bewirkt die Tatsache der Heterozygotie eines Allelenpaares das Luxurieren der Bastarde. Der Vorgang spielt sich hier innerhalb eines engen Verwandtschaftskreises,



Abb. 13. Kreuzung *Antirrhinum majus* S. 50 $\times$ S. 50 mut. Schmalblatt XXV. Von links nach rechts: 467 Schmalblatt XXV homozygot, 470 I S. 50 $\times$ Schmalblatt XXV F₁, 432 S. 50 normal.



Abb. 14. Kreuzung *Antirrhinum majus* S. 50 $\times$ S. 50 mut. Schmalblatt XXV. Von links nach rechts: 432 S. 50 normal, 479 I S. 50 $\times$ Schmalblatt XXV F₁, 467 Schmalblatt XXV homozygot.

innerhalb eines Inzuchtstammes ab. Es bedarf also keinesfalls, wie in der züchterischen Literatur oft betont wird, der Kreuzung nichtverwandter Inzuchtstämme, um überhaupt Heterosiseffekte zu erzielen, wenngleich sicher ist, daß die Kreuzung nichtverwandter Inzuchtstämme in der Regel zu einer Steigerung der Heterosis als Folge polygen bedingter Heterozygotie führen wird.

Damit soll nicht gesagt sein, daß die Heterozygotie an sich die alleinige Ursache der Heterosis ist. Es scheint durchaus denkbar, daß weitere Erscheinungen zusätzlich für die Realisierung von Heterosiseffekten bestehen. Sicher treten sie, wie auch das vorliegende Material beweist, nicht nur an Fremdbefruchtern auf, sondern sind auch an Selbstbefruchtern zu finden. Es kann auch kein Zweifel sein, daß die durch Heterozygotie bedingte Heterosis ein viel häufiger zu beobachtender Vorgang ist als lange Zeit hindurch angenommen wurde. Es ist

ebenfalls sicher, daß keinesfalls alle Allele in der Lage sind, im F_1 -Bastard Heterosiseffekte hervorzurufen. *Der stimulierende Effekt der Heterozygotie eines Allelenpaares ist eine spezifische Wirkung ganz bestimmter Allele, über deren stoffliche Grundlage wir noch nichts wissen.* Eine Erklärungsmöglichkeit besteht in der Annahme (s. auch GUSTAFSSON), daß die Wirkung homozygot vorhandener rezessiver Allele in der Mutante aa auf die hohe „schädigende“ Konzentration von Genwirkstoffen zurückzuführen sei, die bestimmte Störungen im Gesamtstoffwechsel bewirkt, welche uns in einem bestimmten Phänotypus (z. B. Chlorophylldefekt) erkennbar werden. Im Bastard Aa dagegen würde die einfache Dosis des gleichen Allels a hier nicht etwa in einer abgeschwächten Form der gleichen Manifestierung in Erscheinung treten (im Sinne einer semidominanten bzw. intermediären Wirkung), sondern ähnlich einer stofflichen Wirkung in schwächster Konzentration einen allgemeinen unspezifischen Stimulationseffekt bewirken. Dabei wäre die Analogie noch insoweit fortzuführen, als keinesfalls alle stofflichen Wirkungen bestimmter chemischer Verbindungen in höchster Konzentration zu Stimulationseffekten befähigt sind, sondern dieser eine spezifische Wirkung bestimmter Verbindungen darstellt. Aus vielen Beispielen ist die anregende Wirkung geringer Dosen, die hemmende Wirkung stärkerer Dosen anorganischer und organischer Verbindungen auf Samenkeimung, Wachstum u. a. bekannt, so daß man in diesem Sinne auch an eine Deutung des Heterosiseffektes denken könnte, dessen stoffliche Ursache zu erforschen Aufgabe entwicklungsphysiologischer und biochemischer Arbeit sein wird.

Ganz ähnliche Gedanken hat SÖDING (1952) in einer den Ergebnissen und Problemen der Wuchsstoffforschung gewidmeten Abhandlung geäußert (S. 297). SÖDING behandelt bei dem Zusammenspiel der Wirkstoffe in der Pflanze die Frage, welche Wirkungen Einstoffbehandlungen und kombinierte Behandlungen haben, die die Wirkstoffe in nicht zueinander passenden Mengenverhältnissen enthalten. Wird z. B. von zwei antagonistisch wirkenden Stoffen nur die Menge des einen wesentlich gesteigert, so treten Störungen im Wirkstoffhaushalt auf, die zu einer dauernden Schädigung der Pflanze führen. Ist dagegen die Schädigung geringer, so besteht die Möglichkeit der Überwindung der Schädigung durch Überkompensation, im Sinne einer intensiven Autosynthese des in das Minimum geratenen Wirkstoffes. Auf das Problem der Heterosis übertragen würde dies bedeuten, daß in den Bastarden Anlagen für Wirkstoffbildung vereinigt sind, die nicht zueinander passen. Bei zu großem Mißverhältnis der Wirkstoffe (oder der Wirkstoffmengen z. B. in der Mutante aa! Der Verf.) wird eine solche Pflanze entweder überhaupt nicht lebensfähig sein oder dauernd Störungen im Stoffwechselsystem zeigen. Ist die Störung dagegen geringer, so kann möglicherweise eine Regulation der primären Störung im Wirkstoffhaushalt durch Überkompensation eintreten, die eine Entwicklungsförderung zur Folge hat. Diese Entwicklungsförderung im Bastard muß erhalten bleiben, da seine Anlagen unverändert von Stelle zu Stelle weitergegeben werden und der Vorgang der Überkompensation in jeder Knospe und in jedem Vegetationspunkt weiterläuft.

Wenn man auf der Grundlage des hier mitgeteilten Materials und der an anderen Objekten in gleicher Weise erzielten Resultate an die Entwicklung einer Theorie der Heterosis denkt, so käme der alten Hypothese von SHULL, EAST und HAYES aus dem Jahre 1912 als Ausgangspunkt erneut große Bedeutung zu. In

dieser Hypothese wurde ausgesprochen, daß die Heterozygotie an sich eine Stimulierung der Lebensvorgänge in der Zelle bewirke. Die bis jetzt erkannten Fälle von mono- und diheterozygoter Dosis sind hierfür eine starke Stütze. Sie erlauben den Schluß, daß auch in Rassen- und Artbastarden die Heterosiswirkung auf einer Summierung von Einzelwirkungen heterozygoter Allelenpaare beruht, die je nach Zahl und Wirkung den Endeffekt bestimmen. Dabei kann man sich vorstellen, daß das Zusammenspiel der heterozygoten Allelenpaare teils fördernd, teils hemmend auf den Heterosiseffekt wirkt, wobei noch zu beachten wäre, was auch HAGBERG schon hervorgehoben hat, daß bestimmte pleiotrope Teilwirkungen von Allelen gefördert, andere dagegen benachteiligt werden können.

Ob eine Additionswirkung der Heterosis in dihybriden Bastarden erfolgt, wie sie GUSTAFSSON und Mitarbeiter bei der Gerste feststellten, konnte an meinem Material bisher nicht mit Sicherheit entschieden werden. Dazu sind weitere Untersuchungen unter sorgfältigster Beachtung gleichmäßiger Anzucht erforderlich. Eine einfache Addition der Wirkung einzelner heterozygoter Allelenpaare im di- oder polyhybriden Bastard ist wohl kaum zu erwarten. Es ist eher anzunehmen, wie RASMUSSEN (1934) dies auch für das Verhalten von Genen, die quantitative Merkmale beeinflussen, formuliert hat, daß die Wirkung zweier gleichsinnig wirkender Allele nicht gleich der Summe der Wirkung jedes einzelnen Allels ist, sondern kleiner als sie. Auch muß künftighin geprüft werden, ob bei *Antirrhinum* noch andere wesentliche Merkmale, wie Fertilität, Kapselgewicht, Samenzahl je Kapsel u. a. m. in den Heterosiseffekt einbezogen sind.

Wieweit die Erklärungsversuche für die Heterosisserscheinung von JONES (1917), KAPPERT (1930), KRÜGER (1947) u. a., die von KUCKUCK ausführlich diskutiert wurden, den experimentell gefundenen Tatsachen gerecht werden, bedarf meines Erachtens auch weiterhin sorgfältiger Prüfung. Mir ist bisher nicht bekannt geworden, daß die von JONES entwickelte Hypothese gekoppelter dominanter Leistungsgene zu konstanten Heterosissippen geführt hat, was erforderlich wäre, um diese Hypothese endgültig zu stützen.

Die von EAST (1936) entwickelte Theorie hat den bestechenden Vorzug, daß sie die verschiedenen Hypothesen in sich vereint. EAST nimmt als wesentlich für die Erscheinung der Heterosis die Wirkung von aktiven, den Stoffwechsel fördernden Genen an, die sich in ihren Einzelwirkungen ergänzen und im Verhältnis von Gliedern multipler Allelenserien zueinander stehen. Unter der Voraussetzung, daß 2 Allele einer Serie, etwa $A_1 A_2$, $A_1 A_3$, $A_1 A_4$ usw. eine kumulative Steigerung ihrer homozygoten Wirkung entfalten, wird hier der Heterozygotievorstellung der Heterosis genüge getan, da verschiedene Glieder einer Serie multipler Allele niemals in homozygoter Form in einem diploiden Individuum vereint werden können, es also keine Fixierung der Heterosis gibt. Da wahrscheinlich in jeder Pflanze viele Loci vorhanden sind, die die Wuchsleistung des Individuums bestimmen, ergibt sich von selbst die Annahme gekoppelter Serien multipler Allele, die in ihren heterozygotischen Verbindungen den Heterosiseffekt bewirken. Nach EAST steigt mit der genetischen Verschiedenheit der Eltern der Grad der Heterosis, auch mißt er den Allelen, die die Entfaltung physiologischer Prozesse hemmen (Chlorophylldefekte), für die Heterosis keine Bedeutung bei.

Ich glaube, daß die neueren Untersuchungen über mono- und digen bedingte Heterosis das Gesamtproblem in folgender Weise verständlich machen:

Entscheidend ist unter allen Umständen die Heterozygotie von Allelenpaaren. Ich neige dazu, hier Stimulationswirkungen geringer Wirkstoffmengen der rezessiven Allele anzunehmen, also in dem Bastard Aa die Heterosiswirkung dem Allel a zuzuschreiben, entsprechend der schon dargelegten Auffassung. Es wäre aber auch denkbar, daß die stimulierende Wirkung auf das dominante Allel A im Bastard zurückführt, oder daß das Zusammenspiel des heterozygoten Allelenpaares in Abhängigkeit vom gesamten übrigen idiotypischen Milieu für den Heterosiseffekt verantwortlich ist. Ob sich die Genwirkungen in den homozygoten Mutanten und im luxurierenden Bastard stofflich einmal fassen lassen werden, bedarf intensiver entwicklungsphysiologisch-biochemischer Arbeit. Darüber ist bis heute nichts bekannt. Im polyhybriden Bastard werden sich die heterotischen Wirkungen der einzelnen Allelenpaare kombinieren, bis zur „Sättigungsgrenze“ addieren, je nach der genetischen Situation, die gegeben ist. Nicht alle heterozygoten Allelenpaare können Heterosiseffekte bewirken, vielleicht gibt es auch solche, die Heterosiseffekte anderer Allelenpaare in ihrer Auswirkung hemmen. Hier sind alle Möglichkeiten offen. Sicher ist, daß auch Allele, die homozygot schädigend wirken, in heterozygoter Verbindung Heterosis bedingen können. Je mehr Allelenpaare an dem Heterosiseffekt beteiligt sind, um so höher wird die Wahrscheinlichkeit der Koppelung derjenigen Loci sein, die in heterozygotem Zustand die Wuchsleistung steigern. Aber auch in diesem Fall wäre eine Fixierung der Heterosis bei diploiden Formen nicht möglich. Wenn LANG und v. WETTSTEIN (1941) darauf hinweisen, daß sich der von STUBBE und PIRSCHLE (1940) bei *Antirrhinum majus* beschriebene Fall der Mutante *spectabilis* rein formal auch durch die Annahme von gekoppelten Genen erklären ließe, ebenso wie RASMUSSEN die Ergebnisse seiner Erbsenuntersuchungen (A = rote Blütenfarbe, a = weiße Blütenfarbe, Aa = bessere Keimfähigkeit als AA oder aa) interpretierte, so ist dies zwar richtig, doch hat diese rein mendelistisch-kombinatorische Auffassung angesichts des schon großen Tatsachenmaterials eine sehr geringe Wahrscheinlichkeit. Es wäre höchst seltsam, wenn die zahlreichen Loci, die in heterozygoter Form Heterosis bewirken, stets von eng gekoppelten Loci begleitet wären, die eine Vitalitätssteigerung über die Leistung der normalen Ausgangsform hinaus verursachten.

Die Untersuchungen an *Antirrhinum* und *Hordeum* ergeben, daß Gene, die homozygot letale und subletale Wirkungen haben, in heterozygotem Zustand Heterosiswirkungen zeigen können. Die Untersuchungen an beiden Objekten zeigen ferner, daß auch Schmalblattmutanten in heterozygotem Zustand Heterosis entfalten können. Ich bin überzeugt davon, daß wir auch Fälle entdecken werden, in denen andere voll lebensfähige Mutanten in heterozygoter Verbindung Heterosiseffekte bedingen. Man wird also wohl kaum sagen können, daß diese oder jene Gruppe von Genen ohne Bedeutung für das Heterosisproblem ist, sondern wir müssen die Heterosiswirkung als individuelle Leistung eines heterozygoten Allelenpaares in Abhängigkeit vom übrigen idiotypischen Milieu werten, ganz unabhängig davon, welche Merkmale im homozygoten Zustand durch die Allele bewirkt werden. Die Abbildungen unserer Arbeit zeigen, wie stark die Wuchsleistung schon im Fall monogen bedingter Heterosis im F₁-Bastard gegenüber den Ausgangsformen sein kann. Alle diese Tatsachen haben vielleicht eine Konsequenz für die züchterische Praxis. Hier wurde lange Zeit hindurch so

vorgegangen, daß man, ohne die genetische Substanz einer Sippe im einzelnen zu kennen, jahrelang bemüht war, Inzuchtstämme herzustellen, und diese dann mit mehr oder minder gutem Erfolg einmal oder mehrfach kreuzte, um Heterosis in den F_1 -Bastarden zu erhalten. Vielleicht kann dieser lange Weg abgekürzt werden, wenn man weiß, daß es auf die Wirkung einzelner Allelenpaare in heterozygotischem Zustand ankommt, und daß innerhalb ein und derselben Sippe dann schon eine starke Leistungssteigerung eintreten kann.

Literatur.

- BRIEGER, F. G.: The genetic basis of heterosis in maize. *Genetics* **35**, 420 (1950). — DOBZHANSKY, TH.: Origin of heterosis. *Genetics* **35**, 288 (1950). — EAST, E. M.: Heterosis. *Genetics* **21**, 375 (1936). — EAST, E. M., and H. E. HAYS: Heterozygosity in evolution and plantbreeding. U. S. Dept. Agr. Biol. Plant. Ind. Bull. **243**, 7 (1912). — GRANHALL, J.: Heterosis effect in *Triticum vulgare*. *Hereditas* (Lund) **32**, 287 (1946). — GUSTAFSSON, Å.: The effect of heterozygosity on variability and vigour. *Hereditas* (Lund) **32**, 263 (1946). — The advantageous effect of deleterious mutations. *Hereditas* (Lund) **33**, 573 (1947). — GUSTAFSSON, Å., N. NYBOM u. U. V. WETTSTEIN: Chlorophyll factors and heterosis in barley. *Hereditas* (Lund) **36**, 383 (1950). — HAGBERG, A.: Heterosis in F_1 combinations in *Galeopsis*. I. *Hereditas* (Lund) **38** (1952). — Heterosis in F_1 combinations in *Galeopsis*. II. *Hereditas* (Lund) **38** (1952). — Heterozygosity in erectoides mutations in barley. *Hereditas* (Lund) **39** (1953). — Heterosis in barley. *Hereditas* (Lund) **39** (1953). — Further studies on and discussion of the heterosis phenomenon. *Hereditas* (Lund) **39** (1953). — HIORTH, G.: Eine Serie multipler Allele für Blütenzeichnung bei *Godetia amoena*. *Hereditas* (Lund) **26**, 441 (1940). HULL, F. H.: Recurrent selection and specific combining ability in corn. *J. Amer. Soc. Agr.* **37**, 134 (1945). — JONES, D. F.: Dominance of linked factors as a means of accounting for heterosis. *Genetics* **2**, 466 (1917). — Heterosis resulting from degenerative changes. *Genetics* **30**, 527 (1945). — KAPPERT, H.: Heterosis und Inzuchtfragen. *Züchter* **2**, 358 (1930). — KARPER, R. E.: The effect of a single gene upon development in the heterozygote in *Sorghum*. *J. Hered.* **21**, 187 (1930). — KOLLER, S.: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1943. — KRÜGER, U.: Die Wirkung einer Bestäubungsbeschränkung beim Roggen und ihre Erklärung. *Züchter* **17/18**, 146 (1947). KUCKUCK, H., u. R. SCHICK: Die Erbfaktoren bei *Antirrhinum majus* und ihre Bezeichnung. *Z. Vererbungslehre* **56**, H. 1 (1930). — LANG, A., u. F. V. WETTSTEIN: Entwicklungsphysiologie. *Fortschr. Bot.* **10** (1941). — MANGELSDORF, P. C.: The effects of a lethal on the heterozygote in maize. *J. Hered.* **19**, 121 (1928). — NYBOM, N.: Studies on mutations in barley. I. Superdominant factors for internode length. *Hereditas* (Lund) **36**, 321 (1950). — RASMUSSEN, A.: Genetically changed linkage values in *Pisum*. *Hereditas* (Lund) **10**, 31 (1927). — A contribution to the theory of quantitative character inheritance. *Hereditas* (Lund) **18**, 245 (1934). ROBERTSON, D. W., and W. W. AUSTIN: The effect of one and of two seedling lethals in the heterozygous condition on barley development. *J. Agricult. Res.* **51**, 435 (1935). — SCHICK, R., u. H. STUBBE: Die Gene von *Antirrhinum majus*. II. *Z. Vererbungslehre* **62**, H. 3 (1932). — Die Gene von *Antirrhinum majus*. III. *Z. Vererbungslehre* **66**, H. 3/4 (1934). — SHULL, G. H.: Duplicate genes for capsula form in *Bursa bursa-pastoris*. *Z. Vererbungslehre* **12**, 96 (1914). — What is heterosis? *Genetics* **33**, 439 (1948). — SINGLETON, W. R.: Breeding behavior of C 30 a diminutive P 39 mutant whose hybrids show increased vigor. *Genetics* **28**, 89 (1943). — SÖDING, H.: Die Wuchsstofflehre. *Ergebnisse u. Probleme der Wuchsstoffforschung*. Stuttgart: Georg Thieme 1952. — STUBBE, H.: Die Gene von *Antirrhinum majus*. IV. *Z. Vererbungslehre* **79**, 401—443 (1941). — STUBBE, H., u. K. PIRSCHLE: Über einen monogen bedingten Fall von Heterosis bei *Antirrhinum majus*. *Ber. dtsh. bot. Ges.* **58**, 546 (1940). — WENTZ, D. B., and S. F. GOODSSELL: Recessive defects and yield in corn. *J. Agricult. Res.* **38**, 505 (1929).

Prof. Dr. HANS STUBBE, Institut für Kulturpflanzenforschung,
Gatersleben, Kreis Aschersleben.

Aus dem Institute of Animal Genetics, Edinburgh.
AN ANALYSIS OF THE MUTAGENIC ACTION
OF FORMALDEHYDE-FOOD.

I. SENSITIVITY OF *DROSOPHILA* GERM CELLS.

By
C. AUERBACH and H. MOSER.

With 8 figures in the text.

(Eingegangen am 30. Juni 1953.)

The sensitivity of *Drosophila* germ cells to the mutagenic action of formaldehyde in the food medium shows a degree of specificity not known for other mutagens. Whereas ionizing radiations and mustard gas produce mutations in all stages of germ cell development in both sexes—although not in all of them to the same degree—formaldehyde food seems to exercise its action only on one narrowly restricted stage in the male germ line. This has been inferred from experiments in which flies, which as larvae had been given formalin-treated food for various periods and at various stages of development, were tested for the frequency of lethal mutations in their germ cells. The main conclusions have been briefly summarized before (AUERBACH 1951a, b, 1953). In the following, the full evidence will be presented and discussed. It yields a consistent picture, showing in the ovaries a lack of response during the whole of larval development, and in the testes a restricted zone of sensitivity which, as larval development proceeds, moves along the testis from its anterior, most advanced, region to more posterior ones.

Material and Methods.

The feeding method as introduced by RAPOPORT (1946) was used. Formaldehyde was stirred into the food after this had been allowed to cool down to between 60° and 70° C. Seeding with live yeast was omitted, in order to force the larvae to feed on the treated food, and also to avoid complications arising from a possible competition between larvae and yeast cells for formaldehyde. Traces of yeast which the larvae carried into the vials did not grow to an appreciable extent. Neither was there any noticeable growth of moulds or bacteria for some days following addition of formaldehyde to the medium.

The concentration of formaldehyde was calculated on the basis of the water used in preparation of the medium; it varied between 0.18% and 0.25% in different experiments. Commercial formalin (36% formaldehyde in water) was used as a source of formaldehyde. The composition of this solution changes with time owing to chemical changes, especially the formation and precipitation of para-formaldehyde. This may result in quantitative differences between experiments in which formalin solutions of different origin or age are used.

Another source of differences between experiments, of which we became aware only in the course of the work, is the remarkable degree to which the composition of the food influences the mutagenic effect of a given concentration

of formaldehyde. This will be discussed in detail in a separate publication. In our early experiments we used a mixture of molasses, maize meal and killed brewers' yeast which proved too low in protein content to give the best results in mutation tests. This medium, which we shall call low protein medium (L-P-M), was therefore abandoned in favour of two alternative media: (1) fortified medium (F-M), containing approximately 13% maize meal, 15% molasses, and 10% killed brewers' yeast in a 1.5% solution of agar in tap water, and (2) yeast-dextrose medium (Y-D-M), containing 10% dextrose and 10% killed brewers' yeast in a 3% solution of agar in tap water. Of these two media, the first usually gave higher mutation rates for a given dose of formaldehyde and a given type of experiment. The type of food medium has to be taken into consideration when comparisons are carried out between different experiments.

A wild-type strain, Oregon-K (Or-K), was used for all experiments. This strain has been kept in our laboratory in mass cultures for over 10 years; it consistently gives a spontaneous mutation rate of about 0.3% sex-linked lethals in ♂♂. The parent flies were made to deposit eggs during three-hour periods. Larvae were transferred to treated medium at definite times after the egg-laying period. Under the conditions of our laboratory, larvae hatch from the egg about 20 hours after the eggs have been laid, and the first two instars last about one day each. Thus, if the age of the larvae is counted in hours from the middle of the egg-laying period, larvae transferred to treated food at 24, 48 or 72 hours of age were at the beginning of the first, second or third instars respectively. Those transferred at 96 hours were about one day before pupation. Various environmental influences may shift this time-development relationship, and this is a third variable to be taken into account in comparisons between experiments. Population density on treated food was kept at from 50 to 60 larvae per vial.

Larvae either completed their development on treated food or were removed to normal food after a given period of treatment. In the latter type of experiment, treatment was often given in small Petri dishes instead of vials. Such treatment for limited periods was, however, found less valuable than had originally been assumed; for observations to be described elsewhere showed that, under the influence of the larvae feeding on it, formalin food loses its mutagenic ability within one day. In the later stages of our work, it was therefore assumed that treatment was terminated within one day of its beginning, even when the larvae had not been re-transferred to normal food. Only for 12-hour periods of treatment re-transfer was still considered necessary. Thus, unless otherwise stated, treatment on a certain day of larval life means that at the beginning of this day the larvae were put on formalin food and were then left to complete development on it. All our data agree in indicating that no significant error is committed by this simplification of technique.

Flies which had been treated as larvae were tested for sex-linked lethals by the MULLER-5 technique. In some experiments, autosomal lethals were scored by the Cy/L method. In most experiments mutations were scored separately in the progeny of each treated fly. Unless the stock has previously been freed from lethals, this method is necessary in tests on ♀♀ for sex-linked lethals, or on either sex for autosomal lethals, because it reveals lethals of spontaneous

origin which may have been present in the parent flies. No such precaution is necessary in tests on ♂♂ for sex-linked lethals; but here the method of keeping separate records for each treated ♂ is useful because it allows the detection of differences in response between individuals, and the isolation of bunches of possibly identical lethals from the same ♂.

At regular intervals, treated ♀♀ were transferred with their mates to fresh vials, and treated ♂♂ were given fresh mates. The successive broods obtained in this way were examined separately for the incidence of lethals. This allows the sampling of germ cells which at the time of treatment had been at successively younger stages of development.

Results.

I. The male germ line. Sex-linked lethals.

Preliminary Experiments.

In the first series of experiments, which was carried out on a low protein diet (L-P-M), larvae were removed from normal to treated food at 24, 48, 72 and 96 hours after laying of the eggs. They were either left to complete development on the treated medium or re-transferred to normal medium after periods of 24 or 48 hours (Fig. 1.)

It will be seen that mutation rates of 2% or more were obtained only in exposures which included the period from 48 to 72 hours, i.e. the second larval instar. Mutation rates in the first instar were about 1%, and those in the third instar 1% or less. Various explanations offered themselves: rate of feeding in second-instar larvae might result in a particularly heavy ingestion of formaldehyde food; rate or type of metabolism at this stage might favour the formation of a mutagenic compound inside the larvae, or protect a mutagenic compound formed in the food from being broken up before reaching the germ cells; penetration of food constituents to the germ cells might be more effective in the second instar than in the other two, etc. However, there were certain features about these experiments which made it unlikely that any of these assumptions was the correct or at least the whole explanation. First, it was found that whenever two consecutive broods had been raised from ♂♂ treated during the second instar, there was a marked falling-off in mutation rate between the first and the second brood. Thus even at this stage not all germ cells had responded equally to the treatment. This suggested the possibility that those larval stages which so far had given negative or doubtful results might also prove sensitive if germ cells of different ages, i.e. successive broods, were tested for mutations. As will be seen, this proved to be true for the third instar. Secondly, it had

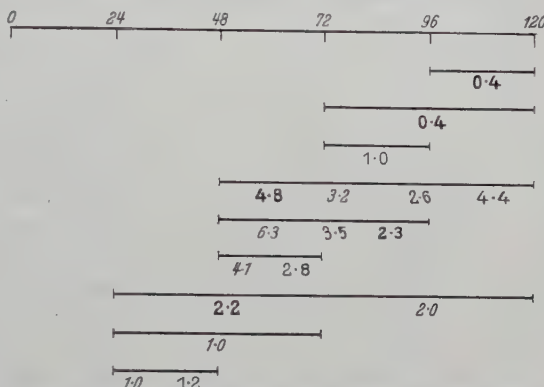


Fig. 1. Mutation rates from larvae which had been treated at different ages and for various lengths of time. The horizontal lines show the period of treatment in hours after laying of the eggs. The figures are mutation rates; those in identical type refer to different series of the same experiment.

meanwhile become obvious that richer food media, which allowed better survival and quicker development, yielded higher mutations rates than the low-protein diet used so far. Since the harmful effects of the L-P-M were most marked in young larvae, we thought it possible that a richer diet might lift the weak response of first-instar larvae to a higher level; again, this assumption turned out to be correct. In the following sections, we shall present the picture which emerged after these initial shortcomings of technique had been overcome.

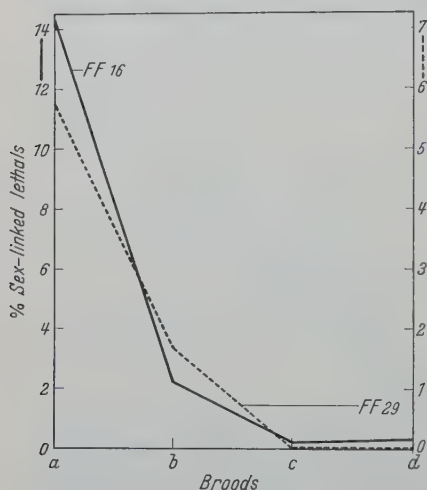


Fig. 2. The brood sequence of mutation rates after treatment during the first instar. FF 29—right ordinate; FF 16—left ordinate.

The similarity of pattern is obvious. Since the sperm used in successive broods stems from germ cells which at the time of treatment had been at less and less advanced stages of development, we may conclude that the testis of the first-instar larva shows a gradient of response to the mutagenic action of formaldehyde food, the most advanced cells giving maximal response, the youngest not responding at all.

Since in the third brood the effect of the treatment has disappeared, a closer analysis of the sensitivity pattern of the first-instar testis can be carried out on the first two broods. Table 1 lists all experiments in which two successive broods were raised from ♂♂ which had been treated on the first day of larval life. It will be seen that the basic pattern of sensitivity may vary in two ways: (a) in the initial level of mutation rate, (b) in the decline of mutation rate from the first to the second brood. The first of these variables, initial mutation rate, depends only in part on controlled experimental conditions such as the concentration of formaldehyde (cf. Expts. FF 16 and FF 17), or the type of food medium used (cf. Expts. FF 16 and FF 45 F). Uncontrolled and not yet sufficiently analysed factors account for the remaining variability. In contrast to this, the second variable, decline in mutation rate from the first to the second brood, appears to be determined almost entirely by controllable experimental conditions. Expressed as ratio of mutation rates in the first two broods, this variable has

Main Experiments.

The first larval instar. When ♂♂ which have been fed formalin food on the first day of larval life are allowed to produce successive broods with either the same ♀♀ or a succession of ♀♀, each brood extending over 3–5 days, the sequence of mutation rates from brood to brood shows a consistent pattern. Mutation rate is highest in the first brood, *a*, falls off markedly in the second, *b*, and reaches control level in the third, *c*. This pattern, which has been termed the „brood sequence of mutation rate“, is illustrated in Fig. 2 for two experiments, FF 16 and FF 29, in which four successive broods (*a* to *d*) were raised.

To correct for the higher absolute mutation frequency in FF 16, different ordinate units were used in the two experiments.

Table 1. *Experiments in which treatment was given on the first day of larval life.*

Group	Experi- ment	Concen- tration CH ₂ O %	Type of food	Brood interval in days	No. ♀♀ per ♂	♀ ♀ for successive broods	Sex-linked lethals										brood gradient a:b
							brood a		brood b		brood c		brood d				
							n	% lethals	n	% lethals	n	% lethals	n	% lethals			
I Slow breeding	FF 32	0.18	Y D M	3	mass	same	276	9.1	164	4.9	—	—	—	—	—	1.9	
							482	7.7	479	2.5	—	—	—	—	—	—	3.1
II Standard procedure	FF 29	0.18	Y D M	3	2	new	253	5.7	299	1.7	264	0	152	0	—	3.3	
	FF 39 A	0.24	Y D M	3	2	new	164	5.5	340	1.5	—	—	—	—	—	3.4	
III Longer brood interval	FF 17	0.18	F M	5	2	same	511	8.2	128	2.0	—	—	—	—	—	4.1	
	FF 16	0.22	F M	5	2	new	198	14.1	480	2.2	507	0.2	484	0.2	—	6.3	
IV Delayed deve- lopment before treatment	FF 45 A	0.22	Y D M	3	2	new	495	7.1	508	1.7	—	—	—	—	—	4.2	
	FF 43	0.18	Y D M	3	2	new	490	4.9	504	0.6	—	—	—	—	—	8.1	
	FF 33	0.25	Y D M	4	2	new	457	1.3	456	0	—	—	—	—	—	1.3:0	

Y D M = yeast-dextrose medium. F M = fortified medium.

Note: In Groups I, II and III larvae for treatment came from eggs which had been deposited on food 24 hours previously. In Group IV larvae came from eggs which had been deposited on agar 24 hours previously for Experiments FF 43 and FF 33, and 29 hours previously for Experiment FF 45A.

been called the brood gradient. In Fig. 3, in which mutation rates for the first two broods have been entered on a logarithmic scale, the brood gradients are represented by the slope of the lines.

In Table 1 the brood gradients appear in the last column, and the experimental procedures with which they are correlated in Columns 3-8. In the table as well as in the graph the experiments have been classified into 4 groups, differing from each other in some fundamental feature of experimental technique.

Analysis of the data in the first three groups reveals two main sources of variability of the brood gradient: (1) length of interval between broods, and (2) opportunity and stimulus to mating during each brood interval.

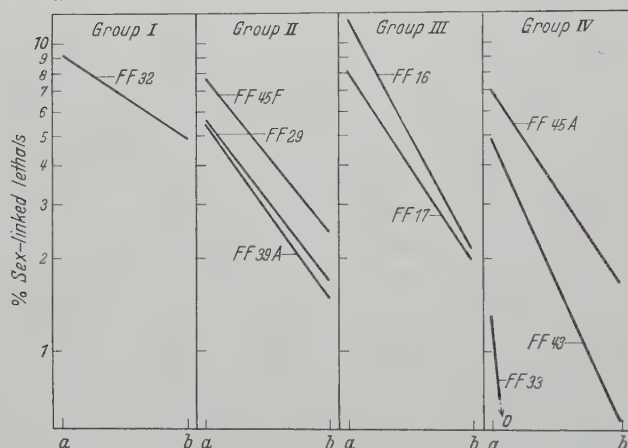


Fig. 3. Brood gradients of mutation rates after first-instar treatment. Group I—Slow breeding procedure; Group II—Standard procedure; Group III—Extended brood interval; Group IV—Nutritional delay before treatment.

firstbrood progeny. After a further 3 days the ♂♂ were discarded or remated to produce a third brood, and the second lot of ♀♀ were placed into fresh vials. Although the three experiments with the standard technique were done at widely different times, they resulted in almost identical brood gradients.

Group I contains only one experiment, in which the brood gradient had been markedly reduced through a slow-breeding technique. The treated ♂♂ were mated in mass cultures to about equal numbers of ♀♀; 3 days later they were transferred to new culture bottles together with their mates. This procedure not only diminishes opportunity for mating as compared with the standard procedure; it also results in a mixing of sperm in the sperm receptacles of the ♀♀, so that successive broods no longer represent clearly divided samples of sperm from successive matings.

Group III contains two experiments in which the brood gradient had been increased by extending the interval between broods from 3 to 5 days, so that more sperm was utilized before the ♂♂ were presented with the second batch of ♀♀. In Expt. FF 17, the effect of the lengthened brood interval was partly counteracted by retaining the same ♀♀ for both broods. In Expt. FF 16, the full effect of the lengthened brood interval is expressed.

The experiments in Group II were carried out with what may be called the „standard procedure“. Eggs were laid and hatched on ordinary maize meal-molasses food; the larvae were transferred to formaldehyde food 24 hours after the middle of the egg-laying period. The emerging ♂♂ were mated individually to 2 Muller-5 ♀♀ each; after 3 days they were given 2 new virgin ♀♀, while their first mates were transferred to fresh vials in order to produce more

The variations of the brood gradients in these three groups do not provide additional information about the sensitivity pattern of the young larval testis; for they are caused, not by changes in this pattern, but by modifications of the way in which sperm from successive testicular zones was sampled. On the contrary, Group IV contains experiments in which the changes of brood gradient reflect differences in the sensitivity pattern at the time of treatment.

In this group of experiments, eggs were laid on agar slabs containing some alcohol and acetic acid to stimulate laying, but no nutrients. Larvae for treatment were collected from these slabs 24 hours (Expts. FF 33 and FF 43) or 29 hours (Expt. FF 45A) after the middle of the egg-laying period. Consequently these larvae were deprived of the few hours of normal feeding which in all other experiments preceded treatment. The result is a decrease in mutation rate, which is more marked in the second than in the first brood and varies in degree between the experiments. In Expt. FF 45A, in which the extension of the pre-treatment period had partly counteracted the low plane of nutrition, only the second brood was affected. Mutation rate in the first brood was the same as in brood *a* of Expt. FF 45 F in Group II, which was run in parallel to FF 45A on fortified medium. In Expt. FF 43, mutation rate was already low in the first brood and very low in the second, so that the brood gradient reached the high value of 8. Finally, in Expt. FF 33, in which malnutrition before treatment was followed by a further delay in development through an unusually severe treatment, a very low mutation rate was followed by a fall to control value in the second brood.

Altogether, then, brood gradients in this group of experiments are not, as in the first three groups, independent of initial mutation rates, but are negatively correlated with them. In Fig. 3 this appears as a fanwise spreading out of the lines representing the three experiments of Group IV. Such a regular change in mutation pattern suggests an underlying regular cause. It seems likely that malnutrition before and during treatment slows down the development of sensitivity in the testis in such a way that under severe conditions of starvation, as in Expt. FF 33, only some of the most advanced cells reach the stage of sensitivity, while under milder conditions the younger cells, represented in the second brood, are delayed to a greater degree than the most advanced ones.

This explanation implies that the typical sensitivity pattern of first-instar larvae develops only gradually in the course of the first day. To test this possibility larvae from the same batch of eggs were transferred to formalin food either 24 or 36 hours after the middle of the egg-laying period; after 12 hours' treatment they were re-transferred to normal food. A third series received the full 24 hours of treatment. Mutation rates for the first two broods of these three series are recorded in Table 2. In both experiments, mutation rate during the second part of the first day is higher than during the first and approaches that obtained by the full 24-hours' treatment. If the two experiments are combined without weighting, mutation rates are 1.3% for the period 24-36, 3.1% for the period 36-48, and 3.5% for the whole period. The difference between the first two values is 1.8 ± 0.6 , whilst that between the second and third is not significant. These data confirm that sensitivity develops in the course of the first instar.

The second larval instar. The older the larvae at the onset of treatment, the greater has been the opportunity for uncontrolled conditions before treatment to affect rate of development and through this the physiological age at the beginning of treatment. It is therefore not unexpected that, in spite of attempts to keep pretreatment conditions as uniform as possible, variability between the results of similar experiments becomes more pronounced with the age of the treated larvae. This is apparent as early as the second day of larval life,

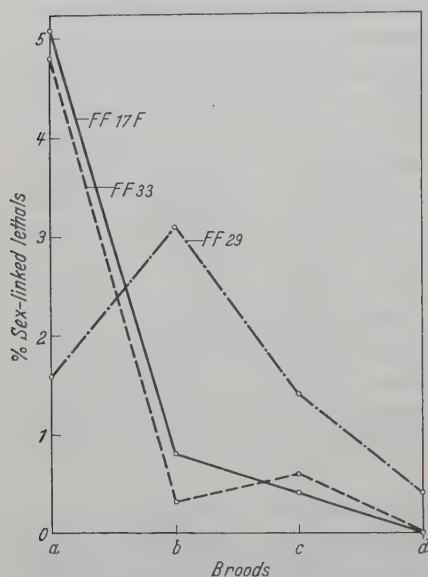


Fig. 4. The brood sequence of mutation rates after treatment during the second instar.

Two of these curves have the typical first-instar shape: a high initial value, followed by a steep decline. The third curve, for Expt. FF 29, is different: although mutation rate in the first brood is already significantly above control level, it reaches its peak in the second brood and consequently declines, reaching control level in the fourth. If this is, indeed, the pattern characteristic for slightly older larvae, it would seem that during the second instar the region of highest sensitivity moves away from the most advanced zone of the testis into an adjoining, younger one. The correctness of this interpretation is shown by closer analysis of the mutation pattern in second-instar larvae, and by the results obtained with third-instar larvae.

Data for all experiments with second-instar treatment, including some on low protein medium, are presented in Table 3, which is constructed in the same way as Table 1. Brood gradients of more than 10 occurred in three experiments, in which long brood intervals were used; these brood gradients have not been calculated in detail, because it is obvious that in these experiments mutation rate in the second brood had fallen to control level and cannot be attributed to the treatment. For the same reason, these three experiments have not been included in Fig. 5 in which mutation rates in the first two broods have been

Table 2. Mutation frequency in ♂♂ which had been kept on formalin food for limited periods during the first instar.

Expt.		Time spent on treated food (in hours after laying of the eggs)		
		24-36	36-48	24-48
FF 30 I	n	393	342	136
	l	3	10	3
	%	0.8	2.9	2.2
FF 30 II	n	365	232	228
	l	7	8	11
	%	1.9	3.5	4.8

n = number of tested X-chromosomes; l = number, and % = percentage of sex-linked lethals.

on which, as will be seen, the original sensitivity pattern of the testis is on its way to being replaced by a different one.

Fig. 4 shows brood sequences of mutation rate for three experiments in which four successive broods were raised.

entered on a logarithmic scale. As in Fig. 3, the brood gradients are represented by the slopes of the lines.

The data in Table 3, like those in Table 1, have been grouped according to the method of sperm sampling. Experiments in the second group were done by our standard procedure: 2 new ♀♀ every three days. In the first group, sperm replacement was slowed down by using the same ♀♀ for successive broods, and in the third group the brood interval was increased, so that the first brood samples a larger testis zone than under standard conditions. It will be remembered that for first-instar larvae this grouping of the data resulted in a steady increase of the brood gradient from the first to the third group, reflecting the dependence of the brood gradient on the method of sperm sampling. No similar regularity is apparent in Table 3. It seems that in experiments with second-instar larvae sampling procedure is of minor importance in determining mutation curves. Instead, we find a different kind of regularity. Within each of the three groups, there is a fairly good positive correlation between initial mutation rate and size of the brood gradient: the higher the initial mutation rate, the steeper, in general, is the decline from the first to the second brood.

This correlation is quite clear in the second, standard, group of experiments, in which, as initial mutation rate falls, the

Table 3. *Experiments in which treatment was given on the second day of larval life.*

Group	Experiment	Concentration CH ₂ O %	Type of food	Brood interval in days	No. ♀♀ per ♂	♀ ♀ for successive broods	Sex-linked lethals								brood gradient a:b
							brood a		brood b		brood c		brood d		
							n	% lethals	n	% lethals	n	% lethals	n	% lethals	
I Slow breeding	FF 17B	0.18	Y D M	4—5	2	same	518	6.4	125	1.5	—	—	—	4.3	
	FF 1	0.20	L P M	5	3	same	336	6.5	295	2.7	—	—	—	2.4	
	FF 4	0.20	L P M	4	mass	same	142	3.5	278	2.1	—	—	—	1.7	
II Standard procedure	FF 41.0	0.22	Y D M	3	2	new	63	12.3	303	3.0	—	—	—	4.1	
	FF 43.0	0.18	Y D M	3	2	new	237	5.2	468	2.8	—	—	—	1.8	
	FF 29	0.18	Y D M	3	2	new	190	1.6	96	3.1	209	1.4	115	0.5	
III Longer brood interval	FF 9A	0.18	F M	7	2	new	404	9.3	181	0.5	—	—	—	> 10	
	FF 9B	0.18	Y D M	5	2	new	403	5.5	113	0	—	—	—	> 10	
	FF 33	0.25	Y D M	4	2	new	294	4.8	374	0.3	316	0	314	> 10	
	FF 17F	0.18	F M	5	2	new	452	5.1	492	0.8	489	0	512	6.4	
	FF 5	0.20	L P M	5	2	new	469	2.6	470	1.5	—	—	—	1.7	
	FF 11	0.22	F M	5	3	new	522	2.7	414	3.7	—	—	—	0.7	

Y D M = yeast-dextrose medium, F M = fortified medium, L P M = low protein medium.

slope of the brood gradient decreases and finally reverses its direction. In the first and third groups, in which conditions were more variable, the correlation is not quite so good, but still recognizable. Moreover, reference to Table 3 shows that the deviations from a consistent positive correlation in these groups are caused by variations in rearing and breeding procedure. Thus, Expts. FF 1 and FF 17B in Group I have the same initial mutation rate, but different brood gradients, because the greater number of ♀♀ per brood in FF 1 has resulted in a quicker turn-over of spermatozoa. In Group III, Expts. FF 5 and FF 11, which have the same initial mutation rate, differ in brood gradient partly because of the smaller number of ♀♀ per brood in FF 5, and partly—or mainly—because the low protein medium used in FF 5 must have delayed development during treatment.

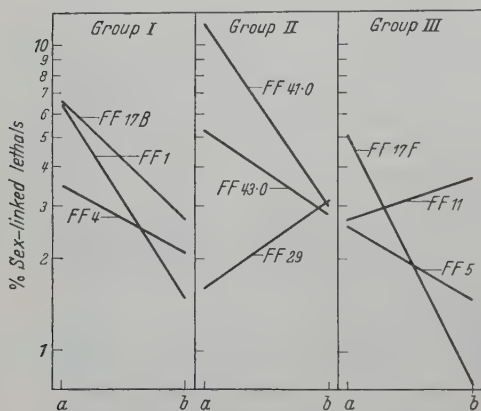


Fig. 5.

Fig. 5. Brood gradients of mutation rates after second-instar treatment. Group I — Slow breeding procedure; Group II — Standard procedure; Group III — Extend brood interval.

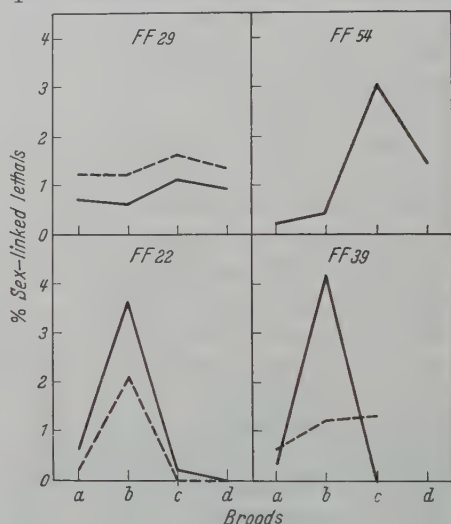


Fig. 6.

Fig. 6. The brood sequence of mutation rates after treatment during the third instar.

— — — Treatment on third day of larval life. — Treatment on fourth day of larval life.

Again, the regular correlated change in initial mutation rate and brood gradient indicates a regular change in sensitivity pattern. All data on second-instar larvae are consistent with the assumption that during this stage sensitivity of the most advanced testis zone diminishes, whilst that of the succeeding zone increases. The new pattern becomes finally established in the third instar.

The third instar. This comprises approximately the third and fourth days of larval life. Tests of the sensitivity pattern of the testis were carried out separately for the third and fourth days. As expected, uncontrolled variations in pretreatment conditions caused differences between the results of individual experiments, but these could not obscure the essential feature of the third-instar pattern, which is a peak of mutation rate in a brood after the first. The data are summarized in Table 4 and represented graphically in Fig. 6.

In three experiments, FF 22, FF 29 and FF 39, parallel series for the third and fourth day were done on progeny from the same parents. One experiment, FF 54, consisted only of a test on fourth-day larvae.

Table 4. *Experiments in which treatment was given on the third or fourth day of larval life.*

Experi- ment	Concen- tration CH ₂ O %	Type of food	Age in hours at onset of treatment	Brood inter- val in days	No. ♀♀ per ♂	Sex-linked lethals										Brood gradi- ent a:b	Brood gradi- ent b:c
						brood a		brood b		brood c		brood d					
						n	% leth.	n	% leth.	n	% leth.	n	% leth.				
FF 22	0.18	Y D M	72 96	5	2	488 487	0.2 0.6	381 86	2.1 1.2	517 496	0 0.2	451 509	0 0	0.1 0.2	> 1 > 1		
FF 39	0.24	Y D M	72 96	3	2	333 314	0.6 0.3	86 245	1.2 4.1	77 70	1.3 0	— —	— —	0.5 0.1	0.9 > 1		
FF 29	0.18	Y D M	72 96	3	2	336 287	1.2 0.7	343 318	1.2 0.6	312 353	1.6 1.1	294 339	1.3 0.9	1.0 1.1	0.7 0.5		
FF 54	0.20	Y D M	96	3	2	617	0.2	575	0.4	99	3.0	71	1.4	0.5	0.1		

In the two experiments which are shown in the lower graphs, FF 22 and FF 39, the mutation curve for the fourth day starts at control level in the first brood, rises to a pronounced peak in the second, and falls again to control level in the third. In the remaining two experiments, FF 29 and FF 54, the fourth-day curve reaches its peak in the third brood, and in the fourth is still above control level. Both of these experiments are of somewhat doubtful validity: FF 54 because of the small number of progeny which could be secured in the later broods, and FF 29 because of its altogether unusual pattern which maintains a slightly raised mutation rate through all four broods. Nevertheless, one may tentatively draw the conclusion that these two tests were done on larvae of a somewhat higher physiological age, and that this has resulted in a spread of sensitivity to even younger testis zones. For Expt. FF 29, this conclusion had, in fact, been already drawn from the mutation pattern obtained after second-day treatment (cf. Fig. 4).

The mutation curves on the third day run more or less parallel to those on the fourth. The fact that in the two typical experiments, FF 22 and FF 39, the mutation curve for the third day is consistently lower than that for the fourth may mean that the sensitivity pattern on the third day is a transitional one, in which sensitivity has been reduced considerably in the most advanced cells, without having yet attained full expression in the younger ones.

The characteristic shape of the mutation curve after third-instar treatment is reflected in the fact that in all but two experiments the brood gradient from the first to the second brood was less than 1. In the two exceptional experiments, in which mutation rate remained unchanged from the first to the second brood, the brood gradient from the second to the third brood was less than 1, in contrast to all our other experiments.

All mutation rates in third-instar larvae were low compared with those obtained in the first or second instar. This may well be due to a real decrease in sensitivity with the age of the larvae; but at least to some degree inaccuracies of sperm sampling must be responsible. In young larvae, where the most sensitive zone is represented by the first brood, dilution with sperm from less sensitive regions is possible only in one direction, namely from younger zones. In older larvae, the sensitive zone is enclosed on both sides by zones of lower sensitivity, and dilution with sperm from less sensitive regions is therefore possible from two directions.

The sequence of sensitivity patterns in the larval testis.

In Fig. 7, the values of the brood gradient after treatment during each of the three instars have been entered on a logarithmic scale.

A value of more than 1 represents a decrease in mutation rate from the first to the second brood, a value of less than 1, an increase. A brood gradient of 1 means that mutation rate has not changed from the first to the second brood. Values of more than 1 were obtained from eight experiments on first instar larvae, while of seven experiments on third-instar larvae five yielded values of less than 1. The remaining two, in which mutation rate remained the same in the first two broods, gave values of less than 1 for the brood gradient between the

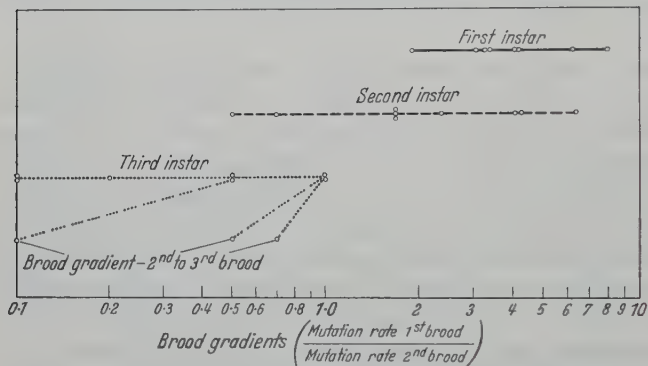


Fig. 7. Brood gradients of mutation rates for the first two broods after treatment during the different instars (Log. scale). Each circle represents one experiment.

second and the third instar. Thus, without exception, the brood pattern of mutation rate is one of decline in first-instar larvae, and of increase in third-instar larvae. The fact that the two distributions of brood gradients are entirely separate from each other shows clearly that the pattern of sensitivity differs fundamentally between these two stages.

The distribution of brood gradients after second-instar treatment overlaps both other distributions, as would be expected for a stage of transition between two successive patterns. The reasons which determine the scatter of values within each of the three groups have been discussed in detail in the respective sections.

We are now in a position to follow the pattern of sensitivity in its development and changes through larval life (Fig. 8).

In the newly hatched larva few, if any, cells of the testis respond to the mutagenic action of formaldehyde food. During the first 24 hours, a zone of high sensitivity develops in the most advanced region. It is followed by a younger zone of diminished sensitivity and this in turn by still younger, non-sensitive cells. Once this pattern has been established, it is stable throughout the rest of the first instar. It may persist also through the second instar; but it is now less stable, and a slight speeding-up of development may result in diminished sensitivity of the first zone, accompanied by increased sensitivity of the second. This is a transitional stage to the pattern of the third-instar larva, which becomes established during the third day of larval life and has reached its full expression on the fourth. It is characterized by a lack of sensitivity in the most advanced region and a zone of preferential sensitivity in the adjoining, younger one. Possibly, this is not yet the final pattern; there are indications that shortly before pupation the zone of highest sensitivity may shift to even younger germ cells.

The peak of mutation rate in the third instar is considerably below that in the first. This is probably partly a spurious difference, due to inadequacies of the method of sperm sampling; but it may also indicate that the high sensitivity of the most advanced region in the young testis is not matched anywhere in the older testis.

The effect of storing on sperm from treated ♂♂.

The consistent decline of mutation rate in late broods suggested the possibility that the mere passage of time might result in a loss of mutated germ cells. To test this, induced mutation rates were compared in sperm used soon after eclosion and sperm which had been stored in ♀♀. ♂♂ which had been treated during the first larval instar were mated to MULLER-5 ♀♀. After three days, the sexes were separated. The ♂♂ were re-mated to fresh ♀♀, and the ♀♀ were kept

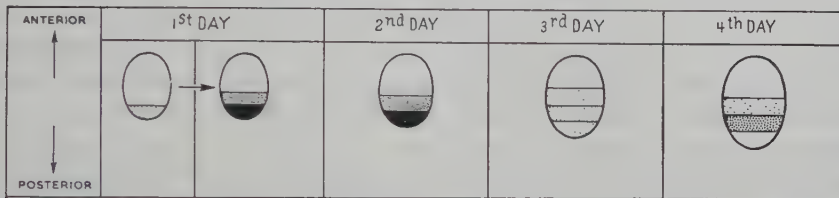


Fig. 8. Distribution of sensitive cells in the larval testis. The age determinations refer to the days on which the larvae were treated. The effective mutagenic treatment probably occurred 15–20 hours later. (Density of stippling indicates degree of sensitivity.)

without ♂♂, but at the same temperature as the ♂♂, on a starvation diet which discourages egg-laying. After another 3 days, the ♂♂ were given a third batch of MULLER-5 ♀♀, and the first batch of ♀♀ were transferred to fresh food, on which they deposited their eggs. Sex-linked mutations were scored in three series: (1) an „early“ brood, produced by the first lot of ♀♀ during the first 3 days; (2) a “stored” brood, produced by these same ♀♀ after three days storing without ♂♂; (3) a “late” brood, produced by the treated ♂♂ with their third batch of ♀♀. Thus, the “stored” brood and the “late” brood were produced simultaneously, the first from sperm which had been released 3–6 days earlier and stored in ♀♀, the “late” brood from sperm released by ♂♂ which had been sexually active through the whole period of the experiment. Results are shown in Table 5.

Table 5. *The effect on mutation frequency of storing spermatozoa in ♀♀.* (For details see text.)

Brood	n	Sex-linked lethals		Visible sex-linked mutations
		No.	%	
early . .	439	19	4.2	1
late . .	537	1	0.2	0
stored .	415	24	5.9	1

Whilst a comparison between the “early” and “late” broods shows the steep decline in mutation rate usually found after first-instar treatment, storing of mature sperm for the same length of time had not reduced the proportion of spermatozoa carrying a mutation. In fact, there was a slight, statistically not significant, increase in mutation rate after storing; if real, this may have been due to the occurrence of delayed mutation during the period of storing.

II. The male germ line. Autosomal lethals.

In a few experiments, lethals on the second chromosome were scored. This was done for two purposes. First, a comparison of brood gradients for sex-linked and autosomal mutation rates provides a measure of the rôle which germinal selection against lethals plays in the determination of the mutational pattern. Second, cross-tests between autosomal lethals in the progeny of the same treated ♂ allow the detection of bunches of identical lethals which trace back to the same mutated germ cell.

For the first purpose, treated ♂♂ were mated to ♀♀ of the genotype $sc^{sl}InS w^{sc^8}; Cy/L$. This allows the scoring of sex-linked lethals (in F_2) and autosomal lethals (in F_3) in the progeny of the same treated ♂♂. This was considered a necessary precaution, because the evidence summarized in Table 1 had shown that after treatment of young larvae the brood gradient is very sensitive to breeding procedure, and it seemed possible that it might be influenced by the type of ♀♀. This was, in fact, shown to be true; for in two experiments with the double-purpose stock the brood gradient from the first to the second brood was unusually low; obviously, sperm utilization had been slower than in the experiments with MULLER-5 ♀♀.

In the first experiment, which was done on a small scale, mutation rates for both sex-linked and autosomal lethals after first-instar treatment fell from the first to the third brood at similar rates; but the figures were not large enough to make this parallelism significant. Moreover, with the type of ♀♀ used mutation rates in the third brood were still well above control level, and a fourth brood had not been reared. Therefore, the experiment was repeated on a larger scale, using 3 ♀♀ per ♂ per brood instead of the usual 2. Lethals on the X and the second chromosome were scored in the first, second, and fourth broods. The results are summarized in Table 6.

Table 6. *Autosomal and recessive lethals in successive broods.*

Tested Chromosome	Lethals							
	Brood a		Brood b		Brood c	Brood d		Brood gradient a:b
	n	% lethals	n	% lethals		n	% lethals	
II	194 (182)	22.1 (22.0)	322 (261)	10.5 (11.1)	not examined	311	0	2.1 (2.0)
X	177 (177)	11.6 (11.6)	548 (443)	5.0 (5.4)	not examined	313	0	2.3 (2.2)
ratio II:X		1.9		2.1				

In brackets data from ♂♂ which had given progeny in both broods of both series.

It will be seen that the brood gradient from the first to the second brood was practically the same in both series: 2.1 for autosomal lethals and 2.3 for sex-linked lethals. When ♂♂ which had failed to produce progeny in one of the first two broods of either series were excluded from the calculation, the brood gradients became 2.0 for the second chromosome and 2.2 for the X: obviously a non-significant difference. In the fourth brood, no lethals were obtained in either series.

For the second purpose, that of testing for bunches of identical lethals among the progeny of individual treated flies, ♂♂ which had been fed formalin food during the first or second instar were mated to Cy/L ♀♀, and their progeny was examined for lethals on the second chromosome. In three experiments of this kind, altogether 128 lethals were obtained in 1176 chromosomes from 46 treated ♂♂. Table 7 shows the distribution of these lethals on the individual ♂♂.

Within each apparent bunch, cross-testing of the lethals was carried through.

One lethal from a bunch of 7 was lost before testing. Two further lethals, both from

one bunch of 8, were lost before testing was completed; one of them had already been tested with 6, and the other with 5 lethals from the same bunch. One lethal from the bunch of 10 had a strong effect on viability and phenotype of the heterozygote, which was not found in any other lethal from this bunch. This indicated that it differed from all of them; but cross-testing was nevertheless carried through with 4 lethals, after which the line was lost. All other possible cross-tests resulted in classifiable progeny. Altogether 255 successful cross-tests were carried out. There was only one case of identity between 2 lethals; these occurred in the progeny of a ♂ who in addition had produced 3 different single lethals. Apart from this exception all apparent bunches consisted of single, different lethals which happened to occur in the same treated ♂.

A test of heterogeneity carried out on the data from two of these experiments showed that the amount of "pseudo-bunching" was significantly greater than would be expected from a chance distribution of the lethals over all ♂♂ ($P=1\%$ for one experiment, 10% for the other, and 0.4% for the pooled data). Obviously, individual ♂♂ respond differently to the same treatment.

There was one case of interaction between two lethals in heterozygous condition: the double heterozygote had abnormal wings, similar to *dumpy*, but more variable in expression; the single heterozygote had normal wings. An analysis was carried out by Mr. ALDERSON and Mr. DONEY; it showed that one lethal was a deficiency for *dumpy*, the other—at about 15 cross-over units' distance—a dominance modifier for the heterozygote of the first lethal.

III. The female germ line.

The first indication that female larvae do not respond to treatment by formaldehyde food came from an experiment which was designed to compare the frequencies of sex-linked and autosomal lethals in the same treated animals. Bottles containing 0.18% formaldehyde in fortified medium were stocked with ♂♂ Or-K and with ♀♀ of the constitution $sc^{Sl}InS\ w^{asc^8}$; Cy/L. Emerging daughters, of the genotype $sc^{Sl}InS\ w^{asc^8}/+$; Cy/+ were mated individually as virgins to ♂♂ Cy/L, and lethals were scored in the usual way in F_2 for the X-chromosome and in F_3 for the second chromosome. Of 50 original ♀♀, 2 were found to be heterozygous for a second-chromosome lethal and had to be discarded from the test. The remaining ♀♀ yielded only 2 lethals in 581 tested X-chromosomes and none in 366 tested second chromosomes.

Table 7. *The distribution of 128 autosomal lethals over 47 P_1 ♂♂.*

No. Lethals	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
No. ♂♂.	9	7	11	7	3	1	2	2	2	1	1

In a second experiment, a pure Or-K stock was used. Larvae were transferred to treated food 48 hours after the middle of the egg-laying period, and mutation rates on the X-chromosome were scored in both treated ♂♂ and ♀♀. The result confirmed the previous one: whereas the male series yielded 14 lethals and 3 visible mutations on 522 X-chromosomes, no lethal or visible mutation was found on 469 X-chromosomes from treated ♀♀. Although mutation rate was unusually low in the male series because of a transitional sensitivity pattern in the testis (see Expt. FF 11, Table 3), the difference from the female series is clearly significant (χ^2 more than 10). Independent work by HERSKOWITZ (1950) and by RENDEL and ROBERTSON in this department (unpubl) showed that ♀♀ which had spent the whole of their larval life on formalin food do not develop mutations.

Before accepting these results as proof for a lack of sensitivity in the larval ovary, we had to consider two alternative explanations. (1) The ovary might respond only during a limited period of larval life. Since the treated food loses its mutagenic ability within 24 hours, treatment given at the wrong stage would then not be effective. (2) The larval ovary, although responsive during the whole of larval life, might contain only a restricted zone of sensitivity. If, as in the testis of old larvae, this sensitive zone should occur among younger germ cells, mutation would not appear in the first brood, which alone had been examined in the previous experiments.

To explore these two possibilities, we set up two large-scale experiments which between them covered the whole of the larval life and a considerable region of the treated ovaries. In the first experiment, which was combined with a test on first-instar ♂♂, larvae of 24 and 48 hours were transferred to treated food; in the second, transfer took place at 72 and 96 hours. In both experiments, four broods, each produced during five days, were raised from each tested ♀. The results, set out in Table 8 show the absence of response at all ages and in all broods. Yet the treatment had been highly effective for the male larvae, as shown by the high lethal rate obtained from them (14%).

Table 8. *The frequency of sex-linked lethals in ♀♀ which had been transferred to formalin food at various stages of larval development. Interval between broods 5 days.*

Age at transfer in hours after laying of the eggs	Brood a		Brood b		Brood c		Brood d		Overall effect		
	n	No. of lethals	n	No. of lethals	n	No. of lethals	n	No. of lethals	n	lethals	%
24	500	0	946	2	484	1	486	1	2416	4	0.17
48	656	1	483	0	497	1	457	1	2093	3	0.14
72	508	1	472	0	505	3	515	0	2000	4	0.20
96	509	1	508	2	492	1	400	1	1909	5	0.26
									8418	16	0.2

Discussion.

In trying to determine the nature of the responsive cell type in the larvae testis, we are faced with the problem of estimating the interval between the time when the larvae are put on treated medium and the time when the mutagenic agent begins to affect the chromosomes of the germ cells. Dr. KAPLAN in this

department has used C^{14} -labelled formaldehyde for obtaining information on this point. He kindly permits us to quote from his preliminary observations that it takes 12 hours or more for C^{14} in the food to reach the gonads. If we add to this the unknown period required for penetration into the nuclei and for interaction with the chromosomes, we may, as a rough estimate, place the time of the actual mutagenic effect at 15–20 hours after transfer of the larvae to formaldehyde medium. In Fig. 8, this should be taken into account by adding about $\frac{3}{4}$ of a day to the ages as given in the drawings. Thus, in larvae treated during the last day of larval life the actual mutagenic reaction will take place about the time of pupation, while in young larvae, treated soon after hatching from the egg, it will take place at the end of the first or the beginning of the second instar.

The sensitive stage, therefore, can be characterized as follows:—at the end of the first or the beginning of the second instar it has been reached by the most advanced germ cells. In the course of the second and third instars it is reached by an increasing number of younger cells. During the third instar the oldest cells begin to pass beyond the sensitive stage, and at pupation all cells in the most advanced testis region have done so. The literature on spermatogenesis in *Drosophila melanogaster* (cf. COOPER, 1950) together with observations by Dr. KAPLAN on the Or-K stock used in our experiments show that all these requirements are met by the auxocyte stage, i.e. the long growth stage which, in the larval testis, precedes meiosis. Auxocytes first appear early in the second instar. During the second and third instar they increase greatly in frequency. Towards the end of larval life, a small proportion of them enters into meiosis. In the prepupa and early pupa the most advanced testis zone appears to consist mainly of meiotic stages.

Experiments with third-day larvae show that the sensitive period does not extend over the whole of the auxocyte stage. In these experiments, the oldest germ cells, represented in the first brood, have already ceased to respond to the treatment, although very few of them, if any, can have yet been in meiosis when the mutagenic reaction in the testis took place. It thus appears that meiosis is preceded by a preparatory phase during which the auxocytes no longer respond to formaldehyde food. It is likely that, as pupation with its great burst of meiosis approaches, more and more auxocytes enter this phase; this, together with the previously mentioned inaccuracies of our method of sperm sampling would explain why in general mutation rates after third-instar treatment are so low.

The beginning of the sensitive stage is more difficult to ascertain than its end. The observation that hardly any mutations are produced by treatment during the first half of the first instar has been taken to show the gradual development of sensitivity after emergence from the egg; but Dr. KAPLAN's results with labelled formaldehyde suggest the possibility that the poor response of these very young larvae is caused by their low food intake. Some evidence for a gradual development of sensitivity in the first instar is also provided by experiments in which the onset of sensitivity was delayed through malnutrition before first-instar treatment. Nevertheless, the possibility cannot be excluded that some mutations are produced in spermatogonia. The main objection to this

assumption is that it postulates a difference in response between early and late spermatogonia. The total lack of response in young spermatogonia is proved not only by the complete lack of mutations in all late broods, but also by the rarity of bunches of identical lethals from the same ♂. Mutations occurring in young spermatogonia result in large bunches, some of which should be detectable even in our limited sperm samples. Indeed, Mr. KISHIN in this department, who is studying the effect of X-rays on young larvae, has already evidence for several such bunches in his material. Similarly, HARRIS (1929) reports bunches of identical lethals in the progeny of irradiated male flies. It is true that RAPOPORT (1947) claims to have obtained bunches of identical lethals after formalin-feeding of larvae; but it seems that he assumed the existence of a true bunch whenever several lethals without obvious phenotypical differences had originated in the same ♂. It is probable that most or all of these supposed bunches were in reality "pseudo-bunches", composed of different single lethals. The established heterogeneity between mutation frequencies in the progeny of individual ♂♂ makes the occurrence of such "pseudo-bunches" more probable than would be expected from the average mutation rate. In our own experiments with autosomal lethals there was only one instance of identity of two lethals among 255 paired comparisons. A second instance of what most probably was a true bunch of two was found in the analysis of sex-linked lethals, which is now being carried out in co-operation with Dr. SLIZYNSKA: two lethals in the progeny of the same treated ♂ not only occurred at sensibly the same locus, but also were connected with apparently identical minute deficiencies. In a few other cases the existence of a bunch of two was compatible with the location data, but—in the absence of chromosomal changes—could not be verified cytologically. There has so far been no case in which more than 2 lethals from the same ♂ seemed to occur at the same locus. If the rare bunches of two were not spontaneous in origin, they may conceivably have arisen in late spermatogonia. On the other hand, it is not improbable that they were produced in auxocytes. All mutations which occur in auxocytes must originally be present in bunches of 2, they are due to alterations in the already existing chromosomes and not to "errors of reduplication". The chance for detecting such small bunches in limited progenies is, of course, low, but not prohibitively so in large scale-work. According to KAUFMANN and DEMEREC (1942), one ejaculate contains about 4000 spermatozoa. It is highly probable that the four products of any meiotic division will be included in the same ejaculate. The number of tested progeny per ejaculate in our experiments averaged about 10. The chance that a progeny of 10, which already includes one lethal out of a bunch of 2, should include a second one from the same bunch is $9/4000$, i.e. 0.2%. Considering that in addition to the analysed pseudobunches of single lethals we have had many hundred cases in which only one lethal was found in a progeny of 10, this probability might well have been realized once or a few times in our material. In conclusion, therefore, our data show that formaldehyde induces detectable mutations preferentially or exclusively in the auxocyte stage, although the occasional induction of mutations in late spermatogonia cannot be excluded.

This does not necessarily mean that no mutations are produced at other stages. For simplicity's sake, our results have so far been presented as though mutation rates reflect degrees of sensitivity of the treated cells. This need not be true. Even if all stages of spermatogenesis were equally sensitive, differences in observed mutation rates could arise through differences in penetration of the mutagenic agent to the chromosomes or through selective processes which at certain stages might discriminate against mutated cells, thus lowering the observed mutation rate. These possibilities have been tested in various ways.

Penetration can hardly play more than a very subordinate rôle in the determination of the observed mutational pattern. It is difficult to believe that differences in mutation rate from 0-10% could be caused by differences in penetration to the cells of a small free-lying organ, especially as the responsive zone shifts its position in the course of larval development. Further, Dr. KAPLAN's slides of larvae which had been fed formaldehyde containing C^{14} show no marked inequalities in the distribution of the radioactive carbon throughout the testis. Although penetration into the nuclei may vary between stages, there is no reason to assume that better penetration should occur in the non-dividing auxocytes than in spermatogonia or meiotic stages, in which breakdown of the nuclear membrane must facilitate access to the chromosomes.

Selection against mutated cells might operate at various levels; among the treated cells themselves, among the cell lineages derived from them, and among mutated spermatozoa which trace back to treated cells. To take the last possibility first, it is conceivable that spermatozoa in which previous treatment had produced a mutation may have a lower survival value, and that this contributes to the rapid falling-off of mutation rates in late broods. To be sure, MULLER and SETTLES (1927) have shown that even large genetical deficiencies do not prevent normal functioning of spermatozoa. However, their mutations were produced by X-rays, which presumably penetrate into all germ cells with equal ease. Chemical treatment, especially treatment by feeding, may very well affect certain cells more than others, and these cells, in addition to developing mutations, may suffer some more general damage which shortens their span of life. If this were true, the mere passage of time should reduce the proportion of mutated spermatozoa in a population of sperm derived from formaldehyde treated germ cells. This, however, is not the case, as has been shown by storing treated sperm in the seminal receptacles of ♀♀. Thus, selection among mature spermatozoa plays no rôle in determining the mutational pattern after formaldehyde feeding.

During the earlier stages of spermatogenesis, selection against lethal-bearing cells takes place after treatment of adult ♂♂ with X-rays (TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1937) and mustard gas (AUERBACH 1949). This "germinal selection" is more severe against lethals on the X-chromosome, for which the ♂ is hemizygous, than against autosomal lethals, whose deleterious effects will usually be covered by the presence of the normal allelomorphs on the homologous chromosome. In fact, the best evidence for the existence of germinal selection is the observation that after irradiation or mustard gas treatment the ratio of autosomal to sex-linked lethals is markedly lower in cells treated as mature spermatozoa than in those treated as spermatogonia. After formaldehyde feeding, no such change in

ratio was observed. Although mutation rate dropped drastically from the first to the second brood, the ratio of autosomal to sex-linked lethals remained sensibly the same; in the fourth brood, no mutations of either type were present. These results do not necessarily mean that no germinal selection against mutated germ cells took place. On the contrary, since in these experiments all mutations were induced in premeiotic stages, one would expect the cells carrying them to be handicapped in the completion of spermatogenesis. From this point of view it is surprising that the observed ratio of lethals on the second and on the first chromosome—slightly more than 2—agrees so closely with the relative lengths of the two chromosomes: even if all mutations are produced in auxocytes, germinal selection up to first anaphase might be expected to shift the ratio in favour of autosomal lethals. Possibly, germinal selection has ceased to operate once the spermatogonia have formed cysts, in which the synchronously dividing cells seem to be protected against the effects of chromosomal defects (PONTECORVO 1944). For the present argument it is immaterial whether or not germinal selection has taken place; for whatever its strength, the ratio of autosomal to sex-linked lethals shows that it is the same in all broods. It cannot, therefore, play a rôle in determining the brood pattern of mutation rates.

A final type of selection which has to be considered is that against cytoplasmically damaged cells. DANIELLI (1952) has shown that in the killing of amoebae by X-rays and nitrogen mustard cytoplasmic as well as nuclear damage are involved. There can be little doubt that mutagenically effective doses of formaldehyde will produce cytoplasmic effects in *Drosophila* germ cells. The high mortality of formalin fed larvae, their delay in development, and the occurrence of morphological abnormalities among the survivors are evidence for cytoplasmic damage to somatic tissues. If, during spermatogenesis, the balance of sensitivity between cytoplasm and nucleus should shift, germ cells into which a mutagenically effective dose had penetrated might be killed more readily at certain stages than at others; the nuclei of these cell stages would then appear more resistant to the mutagenic action of the treatment because their cytoplasm is more sensitive to its toxic action. It is conceivable that this type of selection may operate among young spermatogonia prior to cyst formation and may in part account for their lack of mutational response. On the other hand, it is difficult to believe that changes in the severity of cytoplasmic, as opposed to nuclear, damage can be of more than secondary importance in determining the marked differences in mutational response which take place between the auxocyte stage and meiosis, and within the auxocyte stage itself. This is also rendered unlikely by observations on the fertility of treated ♂♂. If cytoplasmic lesions should preferentially eliminate cells of a particular stage, one would expect fewer functional sperm to be formed from this stage, and fertility to be reduced in the corresponding brood. This is, in fact, true for X-radiation, which is known to kill preferentially spermatocytes; for in mice (HERTWIG 1938) as well as in *Drosophila* (FRIESEN 1937; KHISHIN, unpub.) the period during which sperm from irradiated spermatocytes is utilized is characterized by a high degree of infertility. That this is not simply due to genetic damage is indicated by the observation (unpub.) that the period of maximal sterility seems to coincide only partly with that of maximal mutation rate. In experiments

with formaldehyde feeding there is no similar evidence for cytoplasmic damage. Broods with many mutations have low fertility; broods with few or no mutations are fully fertile. Thus, sterility after formalin feeding appears to be caused either wholly by genetical damage, or—more probably—by a combination of cytoplasmic and nuclear lesions which at all stages are closely correlated in severity.

In conclusion, all our evidence goes to show that differences either in penetration or in severity of selection cannot account for the observed brood sequences of mutation rate after formaldehyde feeding, and that indeed formaldehyde food produces its genetical effects preferentially or exclusively during a period which occurs in the auxocyte stage and ends at some time prior to meiosis.

It is attractive to attribute the mutagenic effect of formalin food to interference with the synthetic processes which occur before meiosis. The strong reactivity of formaldehyde with proteins lends some plausibility to this assumption. Moreover, recent investigations which have shown the participation of formates in purine synthesis (BUCHANAN 1950; GREENBERG 1951; TOTTER et al. 1951) suggest the possibility that formaldehyde feeding may in some way affect nucleic acid synthesis. This is now being investigated by Mr. ALDERSON in this department. In this connection it is of interest that in root tip cells of *Vicia faba* DNA synthesis takes place during interphase, but ends about 8 hours before the onset of mitosis (HOWARD and PELC 1953). This is a striking parallel to our finding that in formaldehyde fed larvae mutation occurs during the interphase preceding meiosis, but ceases some time before meiosis. However, HOWARD and PELC' observations were made on mitotic plant cells, and their applicability to meiotic insect cells is doubtful. TAYLOR (1953) studied the uptake of P^{32} by the sporogenous tissue of *Lilium* and *Tradescantia* and found that it takes place during the later part of the interphase which precedes meiosis. The only comparable data for animals are those by SWIFT (1950), who established that in the mouse testis DNA content is doubled before the beginning of meiosis and remains unchanged throughout meiosis; his observations do not allow a more accurate determination of the time of DNA synthesis.

A possible explanation for the failure of formaldehyde food to act on the late auxocyte and the early meiotic stages is that the mutagen, like some of the purines studied by KIHLMANN (1951), cannot enter the nucleus except at division stages, when the nuclear membrane is absent. Active mutagen would then have to enter the auxocytes at the last spermatogonial division, and if, as seems likely, its effectiveness is limited in time, it would gradually lose its activity as the cells approach meiosis.

If formaldehyde food should produce mutations by interfering with chromosome synthesis, one would expect it to act also during spermatogonial interphases. Although our results do not exclude the occasional occurrence of mutations in spermatogonia, they show that this is at the best a rare event, not comparable in frequency with the induction of mutations in auxocytes. One may speculate that the exceptional sensitivity of the auxocyte interphase to disturbances of chromosome metabolism is due either to its metabolic peculiarities, which may be inferred from its unique histological and cytological features (HUETTNER 1930), or to its unusually long duration. This might also explain the failure of various investigators to obtain mutations by keeping adult ♂♂ on formaldehyde

food (RAPAPORT 1947; AUERBACH unpub.; KAPLAN unpub.); for in the adult testis no stage comparable to auxocytes is found, and meiosis seems to progress without interruption (COOPER 1950). Tests with labelled formaldehyde, carried out by Dr. KAPLAN, show that the lack of mutational response in adult ♂♂ is not caused by failure of penetration into the testis.

With a different technique of formaldehyde treatment it has been possible to induce mutations also in adult *Drosophila*. Injection of aqueous solutions of formaldehyde into the abdominal cavity of the ♂ induces mutations, the majority of which trace back to mature spermatozoa (AUERBACH 1952, 1953; SOBELS unpub.). Whether or not there is a second sensitive period to formaldehyde injections earlier in spermatogenesis is now investigated by Dr. SOBELS in this department. In any case, those mutations which occur in mature sperm can hardly have been caused by interference with chromosome synthesis; it is more likely that they arose through a direct chemical influence on the chromosomes, similar to that which produces back mutations in *Neurospora* conidia (JENSEN et al. 1951). There is no cogent reason to assume that a chemical mutagen should produce its effect always by the same mechanism, independent of the manner of application and the stage treated. A formaldehyde solution which reaches mature spermatozoa may act in quite a different way from the mutagenic compound which, *via* digestion and metabolism, reaches larval germ cells from a medium containing formaldehyde.

The present evidence is not sufficient to decide why formaldehyde food produces no mutations in female larvae. Dr. KAPLAN's tests have shown that C^{14} is present in the ovaries of female larvae which have been kept on food containing labelled formaldehyde; this, however, does not prove that the effective substance has really established contact with the chromosomes of the oogonia. Selection against mutated oogonia might also play a rôle, although the uniformly good fertility of treated ♀♀ makes this unlikely. The most tempting hypothesis is that larval ovaries do not develop mutations because they do not contain cells in preparation for meiosis. Experiments in which adult ♀♀ failed to develop mutations when kept on formaldehyde food seemed to contradict this hypothesis; for the imaginal ovary contains meiotic stages. However, the equally negative results with adult ♂♂ have since invalidated this conclusion.

An incidental result of our experiments was the realization how strictly mating procedure determines the release of spermatozoa by the ♂. After treatment of older larvae, in which the mutation rate sequence is very sensitive to slight differences in developmental stage, this is not so obvious; but after treatment during the first instar, when the sensitivity pattern of the testis is highly stable, opportunity and stimulus for mating appear to be the main factors which determine the brood sequence of mutation rates. Experiments with different strains of ♀♀ have shown that the stimulus for mating and with it the rate of sperm utilization depends also on the type of mate with which the ♂ is presented. Finally, experiments which will be reported elsewhere show a dependence of the brood sequence of mutation rates on the strain of ♂♂ used; but in this case it is not possible to decide whether strain differences in sexual behaviour or in sensitivity pattern of the larval testis are responsible. In any

case, the influence of strains and mating procedure has to be considered when patterns of mutation rate are compared. A brood which in one experiment has been shown to trace back to, e.g., primary spermatocytes, may in a different experiment represent spermatogonia or mature spermatozoa.

The behaviour of unmated ♂♂ is less predictable. LÜNING (1952) found a striking parallelism in rate of dominant lethals between, on the one hand, successive broods from irradiated ♂♂ and, on the other, first broods from ♂♂ which had been stored without ♀♀ for corresponding periods after irradiation. He concludes that unmated ♂♂ utilize or resorb their sperm at the same rate as mated ones. However, in another of his experiments the parallelism was much less marked, and it is quite absent in some experiments by other workers. Thus HARRIS (1929) found no change in the frequency of X-ray induced sex-linked lethals when the sperm had been stored in the ♂♂ for 14 days, whilst during the same period mutation rate had dropped drastically in sexually active ♂♂. AUERBACH (1950) found a similar lack of effect from storing mustard gas treated sperm in ♂♂. Later experiments in this department have given contradictory results. On the whole, it seems that unmated *Drosophila* ♂♂ cannot be relied upon to store their sperm under all conditions. So long as the precise conditions which ensure storing are not known, this complication has to be taken into account in mutation work.

Summary.

(1) When *Drosophila* ♂♂, which as larva have been grown on media containing formaldehyde, are mated to a succession of ♀♀, mutation rates in successive broods vary in a way which is characteristic for the age of the treated larvae. After treatment on the first day of larval life, mutation rate is high in the first brood, declines in the second, and reaches control level in the third. After treatment on the last day of larval life, mutation rate is low in the first brood, reaches a peak in the second or third, and subsequently falls again to control level. With treatment on the intervening days transitional patterns are obtained.

(2) All results agree with the assumption that observable mutations are induced preferentially or exclusively during the auxocyte stage, i.e. the long growth stage which precedes meiosis in the larval testis. Mutations are not obtained from the last part of the auxocyte stage, which immediately precedes meiosis. It is possible that some mutations go back to late spermatogonia. Early spermatogonia do not yield mutations, as shown by the complete lack of mutations in all late broods, and the great rarity of bunches of identical mutations from the same ♂. Only one bunch of 2 was obtained in 255 crosstests between second-chromosome lethals.

(3) Various types of selection can be ruled out as factors in the determination of the brood sequence of mutation rates.

(a) Mature spermatozoa from treated ♂♂ retain their original mutation rate during several days' storing in the seminal receptacles of the ♀. Thus there is no selection against spermatozoa which carry a lethal.

(b) The brood sequence of mutation rates is strictly parallel for sex-linked and autosomal lethals. If germinal selection against immature germ cells played a rôle in determining the mutational pattern, autosomal lethals should be relatively more frequent in later broods.

(c) Selection against cells which have suffered cytoplasmic as well as nuclear damage cannot be excluded, but is likely to be of significance only, if at all, at very early stages of spermatogenesis, prior to cyst formation.

(4) Since selection is of such small significance, and since there is also no evidence for drastic differences in penetration to various types of germ cell, it seems most likely that the observed brood sequences of mutation rates are due to preferential or exclusive sensitivity during the earlier part of the auxocyte stage. This suggests a connection with chromosome synthesis.

(5) The ovary is refractory to mutagenic treatment by formaldehyde food during the whole of larval life.

(6) No mutations were produced by feeding formaldehyde food or formaldehyde solution to adult ♂♂ and ♀♀.

(7) Sperm utilization in the mated ♂ depends on the strains to which ♂ and ♀ belong and on opportunity and stimulus for mating. In unmated ♂♂ the rate at which sperm is utilized or resorbed varies in an as yet unpredictable way. These factors are important for comparisons between mutation experiments.

Zusammenfassung.

1. Wenn *Drosophila* ♂♂, welche als Larven auf Formalin-enthaltendem Futter gezüchtet worden sind, nacheinander mit einer Folge von ♀♀ gepaart werden, so wechselt die Mutationsrate von Brut zu Brut in einer Folge, die für den jeweiligen Alterszustand der Larven während der Behandlung charakteristisch ist. Nach Behandlung am ersten Tage des Larvenzustandes ist die Mutationsrate hoch in der ersten Brut, fällt ab in der zweiten und hat in der dritten das Niveau der Kontrollen erreicht. Nach Behandlung am letzten Tage des Larvenzustandes ist die Mutationsrate niedrig in der ersten Brut, erreicht ein Maximum in der zweiten oder dritten und fällt in der Folge zum Kontrollniveau herab. Behandlung an den dazwischenliegenden Tagen gibt Übergangsmuster.

2. Alle Ergebnisse stehen im Einklang mit der Annahme, daß beobachtbare Mutationen vorzüglich oder ausschließlich im Stadium der Auxocyten erzeugt werden, d. h. in dem langen Zellwachstumsstadium, welches im Larvenhoden der Meiose vorausgeht. Im letzten Teil des Auxocytenstadiums, unmittelbar vor der Meiose, werden keine Mutationen mehr erzeugt. Es ist möglich, daß auch in späten Spermatogonien einige Mutationen entstehen. Frühe Spermatogonien liefern keine Mutationen; das geht hervor aus dem völligen Fehlen von Mutationen in allen späten Brutten und aus der großen Seltenheit, mit der Bündel identischer Mutationen in der Nachkommenschaft desselben Männchens gefunden werden. Nur ein Bündel von zwei identischen Mutationen fand sich in 255 Kreuzungen zwischen je zwei Letalfaktoren auf dem zweiten Chromosom.

3. Es konnte gezeigt werden, daß verschiedene Arten der Selektion zwischen Keimzellen nicht als Ursache für die Brutfolge von Mutationsraten in Frage kommen.

a) Reife Spermatozoen von behandelten ♂♂ behalten ihre ursprüngliche Mutationsrate bei, wenn sie mehrere Tage lang in den Samenbehältern der ♀♀ gespeichert werden. Es findet also keine Selektion statt gegen Spermatozoen, die einen Letalfaktor enthalten.

b) Die Brutfolgen der Mutationsraten von geschlechtsgebundenen und autosomalen Letalfaktoren verlaufen genau parallel zueinander. Wenn Germinalselektion gegen unreife Keimzellen eine Rolle in der Bestimmung des Mutationsmusters spielte, würde man erwarten, daß späte Bruten relativ mehr autosomale Letalfaktoren enthalten würden.

c) Selektion gegen Keimzellen, deren Zytoplasma geschädigt worden ist, kann nicht ausgeschlossen werden, kann aber im besten Falle nur in den frühesten Stadien der Spermatogenese, vor der Zystenbildung, eine Rolle spielen.

4. Da Selektion eine solch geringe Rolle spielt, und da sich auch kein Hinweis auf starke Unterschiede zwischen dem Eindringen der mutagenen Substanz in verschiedene Zelltypen fand, ist die wahrscheinlichste Deutung der Brutfolge von Mutationsraten, daß sie auf vorzügliche oder ausschließliche Sensitivität des frühen Auxozytenstadiums zurückzuführen ist. Das läßt an einen Zusammenhang mit den synthetischen Kernvorgängen in diesem Stadium denken.

5. Das Ovar ist während des ganzen Larvenstadiums gegen die mutagene Wirkung von Formalinfutter unempfindlich.

6. Fütterung von Formalinmedium oder Formalinlösung an erwachsene ♂♂ und ♀♀ rief keine Erhöhung der Mutationsrate hervor.

7. Die Geschwindigkeit, mit welcher gepaarte ♂♂ ihre Spermien verbrauchen, hängt ab von den Stämmen, denen ♂♂ und ♀♀ zugehören, und von der Gelegenheit und dem Anreiz zur Kopulation. In isoliert gehaltenen ♂♂ hängt die Geschwindigkeit, mit welcher Spermatozoen verbraucht oder resorbiert werden, von noch nicht geklärten Faktoren ab. Es ist wichtig, bei der Ausdeutung von Mutationsversuchen diese Umstände im Auge zu behalten.

Literature cited.

- AUERBACH, C.: Chemical induction of mutations. Eighth Inter. Congr. Genetics. Hereditas (Lund), Suppl. 128 (1949). — Differences between effects of chemical and physical mutagens. Pubbl. Staz. zool. Napoli 22, Suppl., 1 (1950). — Some recent results with chemical mutagens. Hereditas (Lund) 37, 1 (1951a). — Problems in chemical mutagenesis. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 16, 199 (1951b). — Mutation tests on *Drosophila melanogaster* with aqueous solutions of formaldehyde. Amer. Naturalist 86, 330 (1952). — Sensitivity of *Drosophila* germ cells to mutagens. Heredity (Lond.) 6, Suppl., 247 (1953). — BUCHANAN, J. M.: Biosynthesis of the purines. J. Cellul. a. Comp. Physiol. 38, Suppl., 143 (1950). — COOPER, K. W.: Normal spermatogenesis in *Drosophila melanogaster*, in *Biology of Drosophila*. London: Chapman & Hall 1950. — DANIELLI, J. F. u. Mitarb.: Site of action of mutagenic reagents. Nature (Lond.) 170, 921 (1952). — FRIESEN, H.: Untersuchungen über künstliche Auslösung von Crossing-over in der Meiosis und Mitosis (Russian with German summary). Biol. Zh. (Moscow) 6, 1055 (1937). — GREENBERG, G. R.: Synthesis of purine in dialyzed liver extracts. Federat. Proc. 10 (1), 192 (1951). — HARRIS, B. B.: The effects of ageing of X-rayed males upon mutation frequency in *Drosophila*. J. Hered. 20, 299 (1929). — HERSKOWITZ, I. H.: The differential induction of lethal mutations by formalin in the two sexes of *Drosophila*. Science (Lancaster, Pa.) 112, 302 (1950). — HERTWIG, P.: Unterschiede in der Entwicklungsfähigkeit von F₁ Mäusen nach Röntgen-Bestrahlung von Spermatogonien, fertigen und unfertigen Spermatozoen. Biol. Zbl. 58, 273 (1938). — HOWARD, A., and S. R. PELC: Synthesis of desoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. Heredity (Lond.) 6, Suppl., 261 (1953). — HUETTNER, A. F.: The spermatogenesis of *Drosophila melanogaster*. Z. Zellforsch. 11, 615 (1930). — JENSEN, K. A. u. Mitarb.: Chemically induced mutations in *Neurospora*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 16, 245 (1951). — KAUFMANN, B. P., and M. DEMEREC: Utilization of sperm by the female of *Drosophila melanogaster*. Amer. Naturalist

76, 445 (1942). — KILHMANN, B.: The permeability of the nuclear envelope and the mode of action of purine derivatives on chromosomes. *Symbolae bot. Upsalienses* **11**, 1 (1951). — LÜNING, K. G.: X-ray induced dominant lethals in different stages of spermatogenesis in *Drosophila*. *Hereditas* (Lund.) **38**, 91 (1952). — MULLER, H. J., and F. SETTLES: The non-functioning of the genes in spermatozoa. *Z. Vererbungslehre* **43**, 285 (1927). — PONTECORVO, G.: Synchronous mitoses and differentiation sheltering the germ track. *Drosophila Information Service* (D.I.S.) **18**, 54 (1944). — RAPOPORT, I. A.: Carbonyl compounds and the chemical mechanism of mutations. (Russian with English summary.) *C. R. Acad. Sci. URSS*, **54**, 65 (1946). — Chemical reactions with the amino groups of the gene proteins. (Russian with English summary.) *J. Gen. Biol.* **8**, 359 (1947). — SWIFT, H. H.: The desoxyribonucleic acid content of animal nuclei. *Physiologic. Zool.* **23**, 169 (1950). — TAYLOR, J. H.: Autoradiographic detection of incorporation of P^{32} into chromosomes during meiosis and mitosis. *J. Exper. Cell. Res.* **4**, 154 (1953). — TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W.: Über Mutationsraten in reifen und unreifen Spermien von *Drosophila melanogaster*. *Biol. Zbl.* **57**, 309 (1937). — TOTTER, J. R. u. Mitarb.: Incorporation of isotopic formate into the nucleotides of ribo- and desoxyribonucleic acids. *J. Amer. Chem. Soc.* **73**, 1521 (1951).

Dr. CHARLOTTE AUERBACH, Institute of Animal Genetics, Kings Buildings,
West Mains Road, Edinburgh (Schottland).

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung (Erwin-Baur-Institut) Voldagsen.

GENOMANALYTISCHE UNTERSUCHUNGEN BEI *TRITICUM* × *AGROPYRUM INTERMEDIUM* UNTER BERÜCKSICHTIGUNG VON *SECALE CEREALE* × *A. INTERMEDIUM**.

Von

HORST GAUL.

Mit 20 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. März 1953.)

A. Einleitung.

Während die Genomaufklärung im *Triticum-Aegilops*-Formenkreis nach rund 30jähriger Forschungsarbeit sehr weit vorangetrieben ist (LILIENFELD 1951), steht sie bei der nahe verwandten Gattung *Agropyrum* erst am Anfang. Nicht zuletzt dürfte dies auf die große Formenmannigfaltigkeit in diesem Genus und auf die mangelnde Übereinstimmung der systematischen Einteilungsmodi zurückzuführen sein. Von *Triticum* sind etwa 20 Arten bekannt, von *Aegilops* rund 25 und von *Agropyrum* (CICIN 1940) nahezu 100.

Das Interesse konzentrierte sich bisher vorwiegend auf solche *Agropyrum*-Spezies, die mit *Triticum* kreuzbar sind, und von deren Einkreuzung in Weizen man sich züchterische Fortschritte versprach. Dies sind bis jetzt fast allein *Agropyrum intermedium* und *A. elongatum*. Von dem in dieser Arbeit interessierenden *A. intermedium* ist die tetraploide und hexaploide Form bekannt, der seltene 4n-Typ stand jedoch nicht zur Verfügung.

Agropyrum intermedium ist im Gegensatz zu *Triticum* fremdbestäubend und perennierend.

Agropyrum intermedium (HOST) PAL. [in der Literatur oft als *A. intermedium* (HOST) BEAUV. und *A. intermedium* (HOST) P. B. bezeichnet] wird allgemein als Synonym von *Agropyrum glaucum* ROEM. et SCHULT. (*Triticum glaucum* DESF.) angesehen. *Agropyrum trichophorum* (LINK) RICHT. unterscheidet sich von diesem, neben einigen quantitativen Merkmalen, die von einer Form in die andere fluktuieren (Ährenlänge, Blütenzahl je Ährchen, Pflanzenhöhe, Blattbreite und -länge, Blattspreitenbehaarung, Blattscheidenbehaarung u. a.), vor allem durch die Behaarung der Glumae und der Palea inferior. Aber auch hier finden sich bei der großen Variabilität dieses Formenkreises im Sortiment des Erwin-Baur-Institutes alle Übergänge von sehr spärlicher Behaarung nur an der Spitze und dem Rande der Palea inferior bis zu starker, zottiger Behaarung auch der Glumae. Nach CICIN (1935) gibt es auch Formen, die nur behaarte Glumae haben. Die Unterscheidung von *A. intermedium* und *A. trichophorum* als zwei getrennte Arten, die von vielen Systematikern getroffen wird (u. a. auch NEVSKI 1934 und PROKUDIN 1938) erscheint deshalb unzweckmäßig, die Einteilung nach Hegis Flora (ZIMMERMANN 1935) richtiger. Danach gliedert sich *Agropyrum intermedium* (HOST) PAL. u. a. in (1) Subsp. *glaucum* (ASCHERS. et GRAEBNER) (unbehaarte Palea inferior) und in (2) Subsp. *trichophorum* (LINK) VOLKHART (behaarte Palea inferior). Die sonst wenig übliche Bezeichnung von ZIMMERMANN „*Agriopyrum*“ wurde nicht übernommen. Nach D. C. SMITH (1942) gehört auch *A. obtusiusculum* LANGE zum *intermedium*-Komplex und ist mit *glaucum* verwandt.

CICIN (1933) gelangen etwa 1930 als erstem mit Sicherheit *Triticum-Agropyrum*-Kreuzungen. Seitdem wurden solche Bastarde in großer Zahl und von

* Teil einer Dissertation.

Tabelle 1. Bisherige Paarungsergebnisse von *Triticum* × *Agropyrum intermedium* in Metaphase I (ohne Rücksicht auf die verwendeten *Triticum*-Spezies und *intermedium*-Subsp.).

Autor	Variation der Bin- dungen	Durchschnitt oder Mode der Bin- dungen	Multi- valente	Σ der gez. PMZ	Ge- folgerte Paarung	Genome von <i>Agr. intermedium</i>
<i>4n Triticum</i> × <i>4n Agr. intermedium</i> .						
KHIZNJAK (1936a) . . .	0—7	M 2	—	—	—	A ₁ D ₁
<i>4n Triticum</i> × <i>6n Agr. intermedium</i> .						
VAKAR (1937a)	0—7	M 0—7	—	—	7	Aa Da X ₁
SIPKOV (1936)	—	M 2—3	—	—	—	—
	—	M 14	—	—	—	—
PETO (1936a)	—	Ø 6,1	III, IV	20	—	A oder B
	—	Ø 7,0	III	20	—	—
KHIZNJAK (1936a) . . .	7—14	M 12	—	—	—	A ₁ B ₁ D ₁
(1938)	—	—	—	—	—	A + 2 auto- synd. Genome
FAVORSKY (1937a) . . .	—7	M 7	—	—	—	—
LOVE u. SUNESON (1945)	—	Ø 1,6	—	50	—	—
	—	Ø 7,6	III, IV	50	—	—
BELL u. SACHS (1953)	2—8 ¹	Ø 5,1	III	50	—	—
<i>6n Triticum</i> × <i>6n Agr. intermedium</i> .						
VAKAR (1936, 1937a, b, 1938)	0—14	M 0—10	—	—	7, 14	Aa Da X ₁
SAPEHIN (1935)	0—4	M 2—3	—	—	—	—
KHIZNJAK (1936a) . . .	4—13	—	—	—	—	A ₁ B ₁ D ₁
	15—16	M 15—16	—	—	—	—
PETO (1936a)	0—4 ¹	Ø 1,3	III	20	—	A oder B +
	—	Ø 5,4	III	20	—	2 unbek. Ge-
	—	Ø 5,6	III	20	—	nome
LOVE u. SUNESON (1945)	4—13 ¹	Ø 10,2	III, IV	50	—	—
THOMPSON u. GRAFIUS (1950)	1—11 ¹	—	—	33	11	—
OHLENDORF (1952) . . .	4—11	Ø 7,1	—	70	—	—
	4—11	Ø 7,7	III	70	—	—

¹ Aus der Veröffentlichung ist nur die Variation der *Bivalente* zu entnehmen, die Variation der Bindungen ist möglicherweise noch größer.

vielen Autoren hergestellt, aber nicht so häufig zytologisch untersucht. Tabelle 1¹ zeigt als Literaturüberblick die bisherigen in Metaphase I (M_I) beobachteten Paarungsergebnisse verschiedener Forscher. Die Kreuzung von *Triticum* mit tetraploidem *A. intermedium* wurde bisher nur einmal (KHIZNJAK 1936a) zytologisch untersucht. Von 4n und 6n *Triticum* × 6n *A. intermedium* liegen mehrfache Paarungsergebnisse vor. Dagegen ist die Kombination 2n Weizen × *A. intermedium* noch nicht zytologisch untersucht worden.

¹ Die Termini „Bindung“ und „Mode“ (in Tabelle 1 und im folgenden) wurden von KIHARA (1929, KIHARA und LILIENFELD 1932) übernommen. Unter Bindungen werden Bivalente und Multivalente zusammengefaßt, wobei Bivalente und Trivalente als eine Bindung gelten. IV- und V-Verbände als zwei, VI-Verbände als drei Bindungen. Die von Zelle zu Zelle innerhalb einer Pflanze beobachtete Paarungsvariation der Bindungen, Bivalenten und der verschiedenen Multivalenten kann neben der unteren und oberen Streugrenze nach dem Durchschnitt oder nach der Mode beurteilt werden. Die Mode der Bindungen ist die am häufigsten vorkommende Anzahl von Bindungen, die bei asymmetrischer Paarungsvariation nicht mit dem Durchschnitt übereinstimmt.

Nach VAKAR (1937a) sollen CICIN (1933) und VERUSCHKIN (1935) *Triticum monococcum* $\times$ *A. intermedium* gelungen sein. VERUSCHKIN selber (1936) berichtet aber über das Gelingen von *Agropyrum*-Kreuzungen „mit allen *Triticum*-Arten außer *T. monococcum*“. JOHNSON (1938) erhielt bei der gleichen Kombination nur embryolose Körner.

Die bisher zytologisch untersuchten $4n$ Weizen $\times$ *A. intermedium* (Tabelle 1) gehören alle zum AB-Typ von *Triticum* (KIYARA 1924), ausgenommen eine Kreuzung von KHIZNJAK (1938) in der AG-Kombination (KIYARA und LILIENFELD 1935a, SEARS 1948), für welche von diesem Autor die gleiche Paarung wie bei den anderen $4n$ Weizenkreuzungen angegeben wird.

Die starken Widersprüche der verschiedenen Forscher (Tabelle 1) sind auffallend. Insgesamt umfaßt die Anzahl der in M_1 beobachteten Bindungen bei $4n$ *Triticum* $\times$ $6n$ *A. intermedium* eine Spanne von 0—14 und bei $6n$ *Triticum* $\times$ $6n$ *A. intermedium* von 0—16. VAKAR (1936, 1937a, b, 1938), von dem die ersten zytologischen Untersuchungen vorliegen, hatte verhältnismäßig starke Paarung gefunden (Mode bis zu 10 Bindungen, Gesamtvariation 0—14). PETO (1936a), der selber nur geringe Paarung in der $6n$ Weizenkombination fand, sowie v. BERG (1949)¹, haben VAKARS zytologische Beobachtungen kritisiert, aber später wurden auch von anderen russischen (SIPKOW 1936, KHIZNJAK 1936a, 1938) und amerikanischen (LOVE und SUNESON 1945, THOMPSON und GRAFIUS 1950) Forschern höhere Bivalentenzahlen beobachtet.

Der Vollständigkeit halber soll noch vermerkt werden, daß CICIN (1935) angibt, VAKAR hätte bei *T. durum* $\times$ *A. glaucum* 14 und zuweilen 7 Bivalente gefunden; bei *T. vulgare* $\times$ *A. trichophorum* seien 9—12 Bivalente und in einzelnen Fällen 21 Bivalente ohne Univalente beobachtet worden. In den zahlreichen Veröffentlichungen von VAKAR gibt dieser selber nur maximal 7 bzw. 14 Bivalente an (s. Tabelle 1).

Eine Klärung der genomatischen Beziehungen zwischen *Triticum* und *A. intermedium* ist aus theoretischen und praktischen Gründen wünschenswert. Es könnten phylogenetische Zusammenhänge aufgedeckt werden, in der praktischen Zuchtarbeit könnten die züchterischen Möglichkeiten abgeschätzt und die Wahl des Zuchtverfahrens entscheidend beeinflußt werden.

Folgende Ursachen der unterschiedlichen Beobachtungsergebnisse über den Paarungsumfang der Bastarde kommen in Frage und werden deshalb in dieser Arbeit einer kritischen Prüfung unterzogen: (1) Unterschiede in dem Homologiegrad der sich paarenden Chromosomen, d. h. Unterschiede in der Chromosomenstruktur der Ausgangseltern (besonders von *A. intermedium*), (2) paarungshemmende Gene, (3) paarungsbeeinflussende Umwelt. Um den Einfluß dieser Faktoren erfassen und ausschalten zu können, mußte ein genetisch möglichst großes Material zytologisch (nach Fixierung unter verschiedenen Umweltbedingungen) sowie morphologisch untersucht werden.

In diesem Rahmen wurde im einzelnen folgendes Programm entworfen:

1. Die Genome von $6n$ *A. intermedium* sollten an der Weizenreihe in folgenden Kombinationen geprüft werden:

- a) Test auf das A-Genom durch *T. monococcum* $\times$ *A. intermedium*.
- b) Test auf das B-Genom durch *T. durum* und *dicoccum* $\times$ *A. intermedium*.
- c) Test auf das D-Genom durch *T. aestivum* $\times$ *A. intermedium*.

¹ Diese Kritik wurde von v. BERG vor dem Kriege geäußert. Das „Handbuch“ konnte erst 1949 druckfertig erscheinen.

2. Möglichkeit und Umfang der Autosyndese von *A. intermedium* in den Bastarden mit Weizen mußte untersucht werden. Aufschluß hierüber ist zu erwarten durch

a) Beobachtungen bei haploidem *A. intermedium*,

b) die Kreuzung mit einem diploiden Analysator (KIHARA und NISHIYAMA 1930) mit dem *A. intermedium* gerade noch kreuzbar ist, zu dem aber keine (oder keine wesentlichen) genomatischen Beziehungen bestehen. Als solch ein Analysator schien *Secale cereale* geeignet. Hier haben sich offenbar phylogenetisch die Chromosomen schneller differenziert als die Kreuzbarkeit. Obwohl zahlreiche Gattungskreuzungen innerhalb der *Triticinae* mit Roggen durchgeführt wurden (vgl. die Literaturüberblicke von KIHARA 1937, KOSTOFF 1941a, AASE 1946), sind bisher keine Anzeichen für eine wesentliche Verwandtschaft des *Secale*-Genoms zu einem anderen Genom bekannt. Die hier gelegentlich beobachtete Paarung kann stets am besten durch Autosyndese der Nicht-Roggenchromosomen erklärt werden (SEARS 1948). Auch die starke Bivalentenbildung von *Aegilops triuncialis* $\times$ *S. cereale*, meist 5—6_{II}, muß autosyndetisch erklärt werden (v. BERG 1931, KIHARA 1937). FAVORSKY (1935) fand bei *S. cereale* $\times$ *A. cristatum* (2n=28) bis zu 7_{II}, aber MYERS und HILL (1940a,b) zeigten, daß *A. cristatum* autotetraploid ist (Teil C, II, 1).

B. Versuchsergebnisse und Beobachtungen.

I. Material und Methode.

Das *Agropyrum*-Ausgangsmaterial hatte folgende Herkunft:

Sortimentsnr.:		Erhalten von:	Jahr
<i>A. intermedium glaucum</i>	33	Prof. VAKAR, Omsk	1937
.. ..	34	Prof. VAKAR, Omsk	1937
.. ..	38	Prof. VAKAR, Omsk	1937
.. ..	71	Bot. Garten, Bremen	1938
.. ..	105	Zentrales landw. Forschungs-	
		institut Sofia	1942
.. ..	116	aus Charkow	—
.. .. <i>trichophorum</i>	74	Prof. TSCHERMAK, Wien	1937
.. ..	114	aus Charkow	—

Es ist anzunehmen, daß fast das gesamte (wenn nicht alles) Material ursprünglich auf russische Herkünfte zurückgeht. In keinem Fall wurden in der vorliegenden Untersuchung Pflanzen, die aus dem Original-Saatgut hervorgegangen waren, benutzt. Es handelte sich stets um Nachkommenschaften, die aus freiem Abblühen hervorgegangen waren. *A. intermedium* ist typischer Fremdbestäuber, der auch Inzuchtdegeneration zeigt. Die ursprünglich erhaltenen Typen sind also alle mehr oder weniger durchkreuzt, und es ist anzunehmen, daß gleiche Vermischungsvorgänge von vielleicht verschiedenen Ökotypen auch schon bei den Absendern des *Agropyrum*-Materials stattgefunden haben. Dies trifft auch für die ständig vorkommenden, natürlichen Kreuzungen zwischen *glaucum* und *trichophorum* zu. Die Spelzenbehaarung vererbt sich wahrscheinlich dominant, auch in der F mit Weizen. Eine Beschreibung der Blühbiologie von *A. intermedium* findet sich bei v. ROSENSTIEL (1949).

Pollengewinnung auf Glanzpapier von abgeschnittenen und im Wasserglas stehenden Ähren führt im allgemeinen nicht zu dem Erfolg wie z. B. beim Weizen. Man ist vielmehr auf Absammeln von Antheren mit Hilfe der Pinzette oder auf Eintüten von Ähren angewiesen.

Die Abstimmung der Blühzeiten der Kreuzungspartner erfolgte durch die üblichen Methoden, (1) verschiedene Aussaatzeiten, (2) Zurückschneiden, (3) photoperiodische Behandlung mit Hilfe von Verdunkelungskästen, (4) Keimstimmung. Die Weizenkreuzungen wurden mit Hilfe der Pinzette durchgeführt. Dagegen bewährte sich bei Roggen $\times$ *A. intermedium* die

Schnittkastration (nach LYSSENKO und DOLGUSCHIN, zit. bei KOSTOFF, 1943) der *Secale*-Ähren. Die Bestäubung erfolgte einfach durch Eintauchen der Ähre in eine Petrischale mit Pollenstaub von *intermedium*. Mit verhältnismäßig geringem Arbeitsaufwand kann so leicht eine große Zahl von Kreuzungen durchgeführt werden.

Für die zytologischen Untersuchungen wurde ausschließlich die Eisen-Karmin-Essigsäure-Quetschmethode angewendet (s. GEITLER 1940, DARLINGTON und LA COUR 1947). Bei den Weizen $\times A. intermedium$ -Bastarden können die ganzen Ähren fixiert werden, nachdem sie entspelzt sind und dadurch die Antheren freiliegen. Bei *A. intermedium* und bei *S. cereale* $\times A. intermedium$ brechen meist die Ährchen beim Entfernen der Spelze auf einem vorgebildeten Kallus ab. Deshalb wurden hier meist die herauspräparierten Antheren allein fixiert. Nach der Fixierung in einem 2:1- oder 3:1-Gemisch von Äthylalkohol und Eisessig wurde das Material nicht in 70%igen Alkohol umgelegt. Die Fixierung erfolgte im Juni und Juli, und bis Ende November/Anfang Dezember wurden hieraus gute Metaphasenpräparate erhalten. Noch im Januar sind die Bilder für Zählungen ausreichend und erst ab Februar werden sie schlecht.

Es wurde ein binokulares Zeiß-Mikroskop verwendet; Optik: Okulare 10 und 15 $\times$, Immersionsobjektiv 90 und 120 . Für die Mikroaufnahmen wurde eine Zeiß-Vertikalkamera „Standard“ 9 $\times$ 12 benutzt.

II. Kreuzungsergebnisse.

Das in der Einleitung dargestellte Kreuzungsprogramm konnte nicht vollständig realisiert werden. So mißlang *T. monococcum* $\times A. intermedium$ trotz großer Bemühungen.

1950 waren bei dieser Kreuzung 654 Blüten nach Pinzettenkastration bestäubt worden und weitere etwa 2000 Blüten nach Schnittkastration. 1951 waren es bei *T. monococcum* $\times A. intermedium$ nach Pinzettenkastration 4930 bestäubte Blüten und bei *A. intermedium* $\times T. monococcum$, ebenfalls nach Pinzettenkastration, 5536. Diese Kreuzungen wurden mit einer Reihe unterschiedlicher Linien beider Eltern durchgeführt.

T. durum (und *dicoccum*) $\times A. intermedium$ wurde 1950 erfolgreich gekreuzt.

Bei *T. aestivum* $\times A. intermedium$ konnte auf Bastarde zurückgegriffen werden, die im Auftrage von Herrn Prof. RUDOLF 1947 und 1948 hergestellt wurden, da die F_1 perenniert.

Mit verhältnismäßig kleinem Aufwand wurde erfolglos versucht, haploide *A. intermedium* zu erhalten durch (1) Bestäubung mit röntgenbestrahltem Pollen, (2) verzögerte Bestäubung und (3) Bestäubung mit *T. aestivum*-Pollen. Die Kreuzung *S. cereale* $\times A. intermedium$, auf welcher der Schwerpunkt lag, gelang dagegen.

Die unterschiedlichen Kreuzungsergebnisse bei Verwendung jeweils anderer Eltern in der gleichen Kombination von 4n und 6n *Triticum* $\times A. intermedium$ (Tabellen 2 und 3) werden wohl in erster Linie (neben einem erheblichen Umwelteinfluß auf die Befruchtungsverhältnisse) auf die (heterozygoten) *A. intermedium*-Eltern zurückzuführen sein. Einen Hinweis geben z. B. A. 114/11 und 114/13 (Tabelle 3). Beide Pflanzen stammen vom gleichen *A. intermedium*-Elter und beide haben, zum Teil sogar in unterschiedlichen Weizen-Kombinationen, die höchsten Ansatzprozente. Seit LEIN (1943) Kreuzbarkeitsgene bei Weizen $\times$ Roggen nachweisen konnte, ist diese Erscheinung nicht mehr überraschend, und es muß andererseits auch bei *Triticum* $\times A. intermedium$ gelegentlich mit einem entscheidenden Einfluß vom Weizenelter gerechnet werden.

Bei *S. cereale* $\times A. intermedium$ wurden etwa 360 Ähren der Sommerroggen-sorte „Karlshulder“ mit Pollengemischen von *A. intermedium* bestäubt. Von diesen etwa 10000—11000 Blüten konnten nur 36 blühende Bastardpflanzen

Tabelle 2. *Triticum durum* und *dicoccum* $\times$ *Agropyrum intermedium*.

Kombination	Bestäubte Blüten	Ansatz %	Keimung %	Blühende Pflanzen	Erfolg %	Nummer der F ₁
<i>T. durum</i>						
T. 4402 $\times$ Agr. 38/14	42	76,3	3,1	1	2,4	K 531
$\times$ Agr. 74/2 ¹	25	48,0	16,7	1	4,0	K 530a
$\times$ Agr. 105/16f/4	104	8,7	23,0	2	1,9	K 532
$\times$ Pollengemisch	20	0,0	0,0	0	0,0	
T. 3683 $\times$ Agr. 33/1	75	54,7	65,9	27	36,0	K 529
$\times$ Agr. 74/2 ¹	22	13,6	100,0	3	13,6	K 530
$\times$ Agr. 105/16f/4	22	0,0	0,0	0	0,0	
$\times$ Pollengemisch	18	0,0	0,0	0	0,0	
T. 3370 $\times$ Agr. 33/1	38	21,1	100,0	7	18,4	K 536
$\times$ Agr. 33/14	17	41,2	100,0	5	29,4	K 535
$\times$ Agr. 74/2 ¹	33	54,5	0,0	0	0,0	
$\times$ Agr. 105/16f/4	18	0,0	0,0	0	0,0	
$\times$ Pollengemisch	44	0,0	0,0	0	0,0	
<i>T. dicoccum</i>						
T. 4665 $\times$ Agr. 33/1	39	0,0	0,0	0	0,0	
$\times$ Agr. 38/14	88	2,3	50,0	1	1,1	K 533
$\times$ Agr. 74/2 ¹	62	41,9	61,5	10	16,1	K 534
Summe	667	23,7	42,4	57	8,6	

¹ Ssp. trichophorum, alle anderen verwendeten intermedium-Eltern sind Ssp. glaucum.Tabelle 3. *Triticum aestivum* $\times$ *Agropyrum intermedium*.

Kombination	Jahr der Kreuzung	Bestäubte Blüten	Ansatz %	Keimung %	Nummer der F ₁
Carsten V $\times$ Agr. 33/1	1948	847	25,8	24,6	49, K 1
Agr. 33/5	1947 + 48	493	13,6	19,4	48, K 52 49, K 3
Agr. 33/15	1947 + 48	457	9,4	14,0	48, K 54 49, K 5
Agr. 33/20	1947	122	30,6	35,2	48, K 55
Agr. 34/5	1947 + 48	480	19,6	26,6	48, K 57 49, K 7
Agr. 38/14	1947 + 48	432	22,2	18,7	48, K 59 49, K 9
Agr. 71/13	1947	161	21,1	17,6	48, K 62
Agr. 74/10 ¹	1947 + 48	379	5,5	42,8	49, K 10
Agr. 105/16	1947	167	3,0	—	—
Agr. 105/20	1947	151	16,7	60,0	48, K 68—69
Agr. 114/11 ¹	1948	352	51,1	15,5	49, K 12
Agr. 116/7	1948	319	33,2	6,6	49, K 15
Heine IV $\times$ Agr. 33/11	1947	139	5,0	28,6	48, K 53
Agr. 33/15	1947	196	1,5	—	—
Agr. 33/20	1947	180	9,4	5,9	48, K 56
Agr. 34/5	1947	143	0,7	100,0	48, K 58
Agr. 38/14	1947	112	5,1	—	—
Agr. 38/18	1947	262	8,8	8,7	48, K 61
Agr. 71/13	1947	184	7,6	7,1	48, K 63
Agr. 74/10 ¹	1947	207	0,5	—	—
Agr. 105/16	1947	154	0,6	—	—
Agr. 105/20	1947	145	10,2	66,7	48, K 70
Peragis $\times$ Agr. 33/1	1948	241	22,0	24,6	49, K 2
Agr. 33/5	1948	100	6,0	—	—
Agr. 33/15	1948	326	5,8	11,0	49, K 6
Agr. 105/16	1948	284	2,5	42,8	49, K 11
Agr. 114/11 ¹	1948	376	57,0	21,0	49, K 13
Agr. 114/13	1948	237	46,5	5,4	49, K 14
Agr. 116/7	1948	329	9,1	6,7	49, K 16
Summe	1947 + 48	7975	18,3	19,4	

¹ Siehe Fußnote Tabelle 2.

gewonnen werden. Die meisten Schrumpfkörner waren keimungsunfähig und wahrscheinlich ohne Embryo. Vermutlich ist ein Teil von Hybridpflanzen im frühen Jugendstadium (1—3-Blattstadium) eingegangen. Hier waren die Bastarde größtenteils nicht mit Sicherheit von reinen Roggenpflanzen morphologisch zu unterscheiden, mit denen sie gemeinsam überwinterten und die auf nicht gelungene Kreuzungen zurückgingen.

Von einer weiter gehenden Diskussion der Kreuzungsergebnisse wird abgesehen. In jüngster Zeit sind hierüber mehrfach Literaturübersichten gegeben worden (SMITH D. C. 1942, 1943, AASE 1946, v. ROSENSTIEL 1949). Insbesondere wird, auch in bezug auf die morphologische und physiologische Beschreibung der perennierenden F_1 , verwiesen auf CICIN (1933, 1935, 1937), VERUSCHKIN (1933, 1935, 1936), ARMSTRONG (1936, 1945), KIKOT und VOLKOVA (1937), JOHNSON (1938) und WHITE (1940). Eine eingehende Beschreibung der Morphologie von *S. cereale* $\times$ *A. intermedium* findet sich bei LUBIMOVA (1937).

III. Zytologische Beobachtungen.

1. Die Ausgangseltern, insbesondere *A. intermedium*.

a) *Triticum*.

Da die Kreuzungseltern als Originalpflanzen nicht zur Verfügung standen, wurden nur Stichproben bei den entsprechenden Sorten von *T. aestivum*, *durum* und *dicoccum* als Metaphasen I-Beobachtungen durchgeführt. Die Paarung war normal, gelegentliches Auftreten von Univalenten, $\pm$ regelmäßiges Auftreten von einigen Stab-II, entsprach den wiederholt von verschiedenen Autoren festgestellten üblichen Verhältnissen.

b) *A. intermedium*.

aa) *Metaphase I und Anaphase I*. Im Gegensatz zum 6n Weizen gelang es nicht oft, ausgebreitete und gut gefärbte Metaphasenplatten zu erhalten. Meist waren die Chromosomen in der Äquatorialebene dicht gedrängt. Es kam nicht beurteilt werden, ob dies an der Fixierung lag. 7 Pflanzen wurden genauer untersucht (Tabelle 4). Univalentbildung, maximal 6 je Zelle, und Stab-II-Bildung, maximal 9, liegen im Rahmen der üblichen Unregelmäßigkeiten (Abb. 1), die beim Roggen und bei anderen fremdbefruchtenden Gräsern gefunden wurden.

Bei einer Pflanze (A. 105/20) wurden durchschnittlich 52,76 Chiasmen (Durchschnitt von 17 PMZ) je Zelle ermittelt, je gebundenes Chromosom waren durchschnittlich 1,27 Chiasmen vorhanden. Im Ausnahmefall konnten hier bis zu 5 Chiasmen je Bivalent beobachtet werden, 3—4 Chiasmen waren keine Seltenheit. Der Terminalisationskoeffizient war 0,42. Es ist aber auf Grund des allgemeinen Eindrucks wahrscheinlich, daß diese Durchschnittswerte sich bei anderen Pflanzen nicht unwesentlich unterscheiden.

Die Multivalentbildung ist auffallend und von Pflanze zu Pflanze recht unterschiedlich (Tabelle 4). BELL und SACHS (1953) geben keine Multivalentbildung an. PETO (1936a) untersuchte 10 PMZ und fand durchschnittlich 0,20_{IV} je Zelle als Ketten. Er vermutet, daß diese die Folge einer reziproken Translokation sind. Während PETO nicht mehr als 1_{IV} je Zelle feststellte, konnten im eigenen Material häufig 2_{IV} beobachtet werden (Abb. 2), gelegentlich sogar mit Sicherheit

Tabelle 4. *A. intermedium*, Paarung in Metaphase I.

Lfd. Nr.	Pflanze	Durchschnittliche Paarung je PMZ					Häufigkeit der Konfigurationen												Sa PMZ	
		Hexavalente	Quadrivalente	Trivalente	Bivalente		2 I II	20 II + 2 I	19 II + 4 I	18 II + 6 I	I IV + 19 II	I IV + 18 II + 2 I	I III + 19 II + 1 I	I III + 18 II + 3 I	I III + 17 II + 5 I	2 IV + 16 II + 2 I	I IV + 17 II + 1 I	I IV + 2 III + 15 II + 2 I		I IV + 18 II
					Insgesamt	Davon Stab-II														
1	105/20	0,05	0,52	0,14	19,40	1,16	0,70	16	7	1	12	5	4	1	1	3	1	1	1	50
2	34/11		0,55	0,00	19,50	5,47	0,55	6	3	1	9	1	1	1		1				22
3	71/13		0,39	0,03	19,77	3,10	0,71	15	2	2	6	3	1	1		1	1			31
4	74/1		0,20	0,20	19,80	4,78	1,00	4	1	1	2		1							10
5	74/2		0,19	0,05	20,00	1,30	1,10	12	4		1	1	1							21
6	114/11		0,20	0,00	20,00		0,44	32	9	1	6					1				50
7	114/13		0,05	0,00	20,60	4,72	6,40	18	5		1					2				25

3 Multivalente in einer PMZ und als maximaler Durchschnittswert einer Pflanze (A. 105/20) 0,66 je PMZ. Die Trivalente sind als dissoziierte Quadrivalente aufzufassen, oft war das Univalent dem Trivalent noch lagemäßig zugeordnet. Tabelle 5 zeigt die Häufigkeit verschiedener Quadrivalent-Konfigurationen. Am häufigsten kamen Ketten in Zickzack-Anordnung vor, aber es wurden auch DARLINGTONS (1931, 1937) Fig. 16 (Phot. 3) und Fig. 15 (Phot. 4, sehr frühe A_I [Anaphase I]) gefunden. Diese gelten als typisch für Tetraploide oder für duplizierte Segmente (segmental reduplication) und nicht für reziproke Translokationen (DARLINGTON 1937). Letztere wurden nur selten als Erklärung für solche Quadrivalent-Konfigurationen herangezogen, z. B. durch MÜNTZING und PRAKKEN (1941), welche die Konfiguration 16 ausnahmsweise bei *Secale cereale* fanden. Es sei hier vorweggenommen: aus dem Ergebnis der Kreuzung *Secale cereale* × *A. intermedium* sowie aus weiteren Gründen, die später dargestellt werden, kann es kaum mehr einem Zweifel unterliegen, daß zwei Genome von *A. intermedium* starke Verwandtschaft aufweisen. Die Multivalentbildung bei *A. intermedium* und insbesondere die Konfiguration 15 und 16 stützen diese Auffassung.

Vermutlich kommt vereinzelt auch DARLINGTONS (1937) Fig. 13 vor, diese konnte aber nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Dagegen ist das sporadische Auftreten von Hexavalenten als Ketten sicher. Im Einklang mit anderen Beobachtungen (Teil III, 2) weisen sie auf gewisse Beziehungen der zwei verwandten Genome zum dritten hin.

Bei der Pflanze A. 34/11 wurden in A_I 2% Zellen mit Brücken ohne sichtbares

Tabelle 5. *A. intermedium*, Häufigkeit der Quadrivalent- und Trivalent-Konfigurationen.

Lfd. Nr.	Pflanze								
1	71/13	2	5	5				2	
2	34/11	8	2	1	1				
3	74/1		1	1				2	
4	74/2	3	1						
5	105/20	16	4			4	2	6	1
6	114/13	1							
Summe		30	13	7	1	4	2	10	1

Fragment beobachtet in A_{II} 2% Dyaden mit Brücken ohne Fragment + 3% Dyaden mit Brücken mit Fragment: bei A. 33/1 in A_I keine Brücken, in A_{II} 2% Dyaden mit Brücken ohne Fragment; bei A. 114/11 in A_I 4% Zellen mit Brücken + Inversionsfragment, in A_{II} 0 Brücken (alles Auszählungen an 100 PMZ, bzw. 100 Dyaden). Vermutlich ist diese geringe Brückenbildung zum großen Teil auf kleine Inversionen zurückzuführen. Verzögerte Chromosomen (laggards) in A_I und A_{II} kamen gelegentlich vor, ebenso Mikronuklei, ihre Frequenz ist bei den Pflanzen recht verschieden.

bb) *Prophase (vorläufige Beobachtungen)*. Das Pachytän ist wegen der hohen Chromosomenzahl schwer zugänglich, doch konnten Partnerwechsel von Chromosomen wiederholt beobachtet werden. Im Diplotän fiel eine oft vorhandene lagemäßige Zuordnung (juxtaposition) von jeweils zwei Bivalenten auf. Entweder liegen mehrere Bivalente in Gruppen zu zweien (1) unorientiert zusammen, oder sie sind (2) parallel gelagert (Abb. 5) oder es sind (3) noch Endverbindungen vorhanden (Abb. 6 und 7). Gelegentlich konnten bis zu 5 solcher „Bivalentpaare“ in einer Zelle beobachtet werden, am häufigsten kamen sie im frühen Diplotän vor, in der Diakinese wurden nur noch wenige gefunden. Der Umfang dieser Erscheinung variiert sehr bei unterschiedlichen Pflanzen (oder Fixierungen?). Sie ist jedoch bei einigen Präparaten so auffällig, daß es sich kaum um eine zufällige Anordnung handeln kann. Fixierungsartefakte, besonders im Hinblick auf die Endverklebungen, erscheinen jedoch nicht unmöglich, wenngleich solche oft nur Vergrößerungen des natürlichen Zustandes darstellen (DARLINGTON 1937, S. 236). Intensivere Untersuchungen scheinen zu einer endgültigen Beurteilung notwendig. Mit Vorsicht können aber doch diese „Doppel-Bivalente“ als Folge von früher Annäherung oder teilweiser Paarung von jeweils vier ähnlichen Chromosomen angesehen werden. Zwei von diesen sind immer vollständig homolog und deshalb enger gepaart (unter Chiasmenbildung), zu dem „Partner-Bivalent“ bestehen nur stark partiell homologe Beziehungen und ein effektiver Partnerwechsel ist deshalb selten. Da die 4 Chromosomen in zahlreichen „pairing blocks“ manövrieren, kommt es infolge von Differential-Affinität (DARLINGTON 1937) nur so selten zum Partnerwechsel, verbunden mit Stückaustausch, wie in der M_I Quadrivalente auftreten.

Es muß auch im Zusammenhang mit den häufigen Endverbindungen darauf hingewiesen werden, daß die Chromosomenenden von *A. intermedium* sehr wahrscheinlich heterochromatisch sind, wie dies beim nahe verwandten *Triticum* (KOSTOFF 1938a,b, 1939a) und *Secale* (LEVAN 1942) gefunden wurde. In diesen

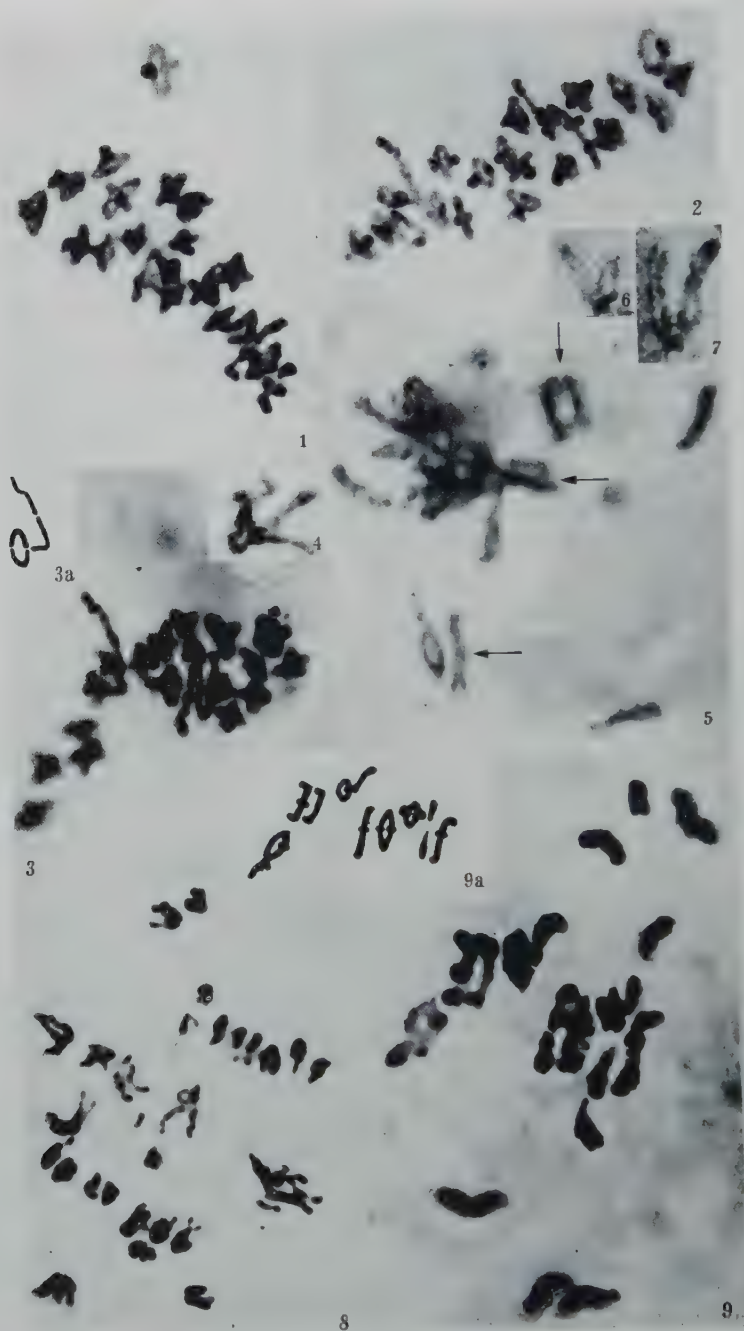


Abb. 1—9. *A. intermedium*, etwa 900 $\times$. Abb. 1. M_I , 21_{II} . Abb. 2. M_I , $17_{II} + 2_{IV}$. Abb. 3. M_I , $17_{II} + 2_{IV}$. Linkes Quadrivalent (schematische Zeichnung 3a) ist DARLINGTONS Fig. 16. Über dem unteren Teil des Stab-Bivalenten dieser Quadrivalentkonfiguration liegt ein Ring-Bivalent, das nicht zur Konfiguration gehört. Abb. 4. Sehr frühe A_I Quadrivalent, DARLINGTONS Fig. 15. Abb. 5—7. Diplotän, lagemäßige Zuordnung und Endverklebungen von Bivalenten.

Abb. 8, 9. *S. cereale* $\times$ *A. intermedium*, Abb. 8 etwa 600 $\times$, Abb. 9 etwa 1200 $\times$. Abb. 8. A_I .

Abb. 9. M_I , $2_{III} + 7_{II} + 8_I$. Schematische Zeichnung 9a zeigt alle Bivalente und Trivalente.

terminalen Zonen beginnt aber bei den *Triticinae* offensichtlich die Paarung im Zygotän oder möglicherweise noch früher (LAMM 1936, DARLINGTON 1940, LEVAN 1942). Die frühzeitigere oder stärkere Paarungstendenz des Heterochromatins ist auch an anderen Objekten wiederholt festgestellt worden, so bei *Oenothera* (MARQUARDT 1938), 4n *Antirrhinum* (STRAUB 1939), 2n und 4n *Impatiens Balsamina* (BOLLE und STRAUB 1941/42), *Streptocarpus* (OEHLKERS 1944) und bei 8n *Digitalis purpurea* (LINNERT 1949).

Über die Erscheinung frühzeitiger Bildung von einigen Multivalentkomplexen bei Polyploiden mit anschließender Dissoziation im weiteren Prophasenablauf ist ebenfalls wiederholt berichtet worden. So fand McCLINTOCK (1929) bei 3n Mais ein solches Auseinanderfallen ursprünglich gepaarter III in II + I, wobei die Univalenten entweder durch einen Faden mit dem entsprechenden Bivalent verbunden waren oder auch nur in dessen Nähe lagen. LINNERT (1949) beobachtete bei polyploidem *Digitalis* nach der Kernaufflockerung im Pachytän die lagemäßige Zuordnung jeweils zweier Bivalenter, die „sehr oft“ zunächst noch in der Mitte zusammenhingen. Auch BOLLE und STRAUB (1941/42) beobachteten im frühen Pachytän von 4n *Impatiens*, daß sich die heterochromatischen Segmente homologer, schon teilweise gepaarter Bivalente in einem „zweiten Paarungsvorgang“ zu einer Viererpaarung zusammenlagern, die sich dann im Diplotän ohne Partnerwechsel wieder lösen.

2. *Secale cereale* $\times$ *A. intermedium* (2n = 28).

Die Beobachtung der Paarungsverhältnisse dieser Bastarde (Tabelle 6) war verhältnismäßig schwierig. Die Anomalien sind hier ungewöhnlich groß, einige Einzelheiten werden in einer Sonderarbeit (GAUL 1953b) gemeinsam mit den bei *Triticum*-Hybriden festgestellten, mitgeteilt. Nahezu 100 verschiedene Fixierungen wurden durchgesehen, die in einem Zeitraum von 6 Wochen, unter verschiedenen Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnissen gesammelt worden waren. Es gelang nur äußerst selten, übersichtliche und eindeutig auszählbare Metaphasenplatten zu finden. Vor allem lag dies daran, daß die Chromosomen durchgehend mehr oder weniger klebrig (sticky) und fast immer überspiralisiert waren. Letzteres geht nicht selten beinahe bis zur Kugelförmigkeit. Gepaarte und ungepaarte Chromosomen können dann nicht voneinander unterschieden werden. Nach „Einsehen“ in das Material können aber Bilder, wie es Abb. 9 zeigt, klar analysiert werden.

Tabelle 6. *Secale cereale* $\times$ *A. intermedium*, Paarung in Metaphase I.

Lfd. Nr.	Pflanze	Univalente je PMZ Durchschnitt	Bindungen je PMZ			Bivalente je PMZ			Trivalente je PMZ		Quadrivalente je PMZ		PMZ
			Durch- schnitt	Mode	Variation	Stab + Ring Durch- schnitt	Ring		Durch- schnitt	Variation	Durch- schnitt	Variation	
							Durch- schnitt	Varia- tion					
1	K 573/1	13,2	6,9	7	4—9	6,0	0,7	0—2	0,9	0—3	0,0		25
2	K 573/6	13,0	7,2	7	6—9	6,6	1,6	0—1	0,6	0—1	0,0		5
3	K 573/5	12,7	6,9	7	4—9	5,5	1,7	0—4	1,5	0—3	0,0		50
4	K 573/24	12,2	7,4	7	5—10	6,3	2,3	0—5	1,0	0—3	0,03	0—1	40
5	K 574/2	11,6	7,5	7	6—9	6,2	2,1	0—5	1,3	0—4	0,0		29
6	K 573/9	11,4	7,4	7	6—9	5,8	1,4	0—4	1,5	0—3	0,08	0—1	50
7	K 573/16	10,6	7,8	7—8	6—11	5,9	2,2	0—4	1,7	0—3	0,0		50
8	K 573/4	10,5	7,8	8	7—10	6,0	3,0	0—6	1,7	0—4	0,08	0—1	50
9	K 573/19	9,8	8,4	9	7—9	7,0	3,0	1—5	1,4	0—2	0,0		5

Die in Tabelle 6 angegebenen Werte der 9 Pflanzen setzen sich zum Teil aus den Auszählungen von Fixierungen verschiedener Tage zusammen, sowohl in bezug auf die Auszählungen innerhalb einer Pflanze als auch zwischen den Pflanzen. Es besteht der Eindruck, daß die Unterschiede von Pflanze zu Pflanze in erster Linie genetisch und erst in zweiter Linie ökologisch bedingt sind. Da die lfd. Nr. 9 wegen der geringen Zahl an ausgezählten PMZ nur begrenzte Bedeutung hat, ist der höchste durchschnittlich gefundene Bindungswert 7,7 (Nr. 8), der niedrigste 6,9 (Nr. 1). Die Gesamtvariation der Bindungen schwankt bei den 304 ausgezählten PMZ von 4 (4mal beobachtet) bis 11 (1mal beobachtet), die Mode liegt meist stark ausgeprägt bei 7. Aber 9 Bindungen wurden noch in etwa jeder zehnten Zelle beobachtet (Abb. 9). Abb. 8 zeigt, daß bei Fixierungen mit relativ normalen Verhältnissen regelmäßig 7—10 Chromosomen durch die Tren-

nung der Bindungen auf die Pole verteilt werden, während die Univalenten zum größten Teil zunächst verzögert zurückbleiben können. Die häufigste Konfiguration ist bei den meisten Pflanzen $6_{II} + 1_{III}$, bei Nr. 3 und 4 $7_{II} + 1_{III}$. Von den insgesamt 604 gezählten Ring-II wurden 2mal 6 je PMZ beobachtet, 8mal 5, 20mal 4 und 58mal 3. Das heißt, 3 Ring-II wurden noch in jeder fünften Zelle gefunden, bei Nr. 8 aber in

Tabelle 7. *Secale cereale* $\times$ *A. intermedium*,
Chiasmenfrequenzen und gebundene Chromosomen
(Anzahl ausgezählter PMZ wie in Tabelle 6).

Lfd. Nr.	Pflanze	Chiasmata je PMZ Durchschnitt	Gebundene Chromosomen je PMZ Durchschnitt	Chiasmata je gebundenes Chromosom Durchschnitt
1	K 573/1	8,70	14,76	0,59
2	K 573/9	9,86	16,56	0,60
3	K 573/5	10,36	15,34	0,68
4	K 573/24	10,71	15,82	0,68
5	K 574/2	11,24	16,34	0,68
6	K 573/16	12,16	17,38	0,70
7	K 573/4	12,91	17,50	0,74

etwa 40% der PMZ. 3mal kamen 4_{III} je PMZ vor und in etwa jeder neunten Zelle 3_{III} ; bei Nr. 7 war die Häufigkeit der Trivalente am größten, hier wurden in etwa 20% der PMZ 3_{III} beobachtet. Die Trivalente kommen in 2 Typen vor, V-förmige waren am häufigsten, G-förmige konnten maximal je Pflanze einen Anteil von $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$ haben (Abb. 9 zeigt beide Typen). Quadrivalente kamen nur sporadisch als Zickzack-Ketten vor.

Tabelle 7 zeigt, wie mit zunehmender durchschnittlicher Chiasmenanzahl je Zelle von Pflanze zu Pflanze auch die Chiasmenfrequenz je gebundenes Chromosom¹ zunimmt (vgl. Abb. 19). Streuungsmäßig wurden maximal einmal 22 gebundene Chromosomen in einer Zelle beobachtet.

Unterbrochene Bivalente (Abb. 9, zweites Biv. von rechts, vgl. auch Abb. 11, drittes von rechts, Abb. 16, zweites und fünftes von rechts, Abb. 18, zweites von rechts) wurden bei einer Pflanze statistisch erfaßt. Solche Assoziationen, die häufig in dem Begriff „locker gebunden“ (loosely attached) miterfaßt sind, werden in dieser Arbeit als „frühzeitig getrennte Bivalente“ (F_{II}) bezeichnet.

¹ „Gebundene Chromosomen“ sind nicht mit „Bindungen“ (S. 506) zu verwechseln. Die gebundenen Chromosomen sind alle in Bi- und Multivalente assoziierten Chromosomen. Man erhält sie, wenn man von der Gesamtchromosomenzahl ($2n = 28$) die Univalente (Tabelle 6) abzieht.

Eingehende Auszählungen von F_{II} wurden bei den Triticum-Bastarden durchgeführt, eine Begründung des Terminus erfolgt in einer Sonderarbeit (GAUL 1953a). Frühzeitig getrennte Bivalente in Ringform kamen nur äußerst selten vor, sie spielen praktisch keine Rolle. Nur solche F_{II} wurden gezählt, bei denen (1) keinerlei Chromatinverbindung zwischen den beiden getrennten Chromosomen mehr sichtbar ist. Auch mußten (2) die inneren Enden der getrennten Partnerchromosomen sich mehr oder weniger zuspitzen, d. h. durch das Auseinanderweichen der beiden Zentromeren etwas „ausgezogen“ erscheinen. Schließlich sollten (3) diese inneren Enden eindeutig zueinander orientiert sein. Dabei war ein großer oder kleiner Abstand zwischen den beiden getrennten Partnern gleichgültig. Unter diesen 3 Voraussetzungen ließen sich die F_{II} einigermaßen scharf und einheitlich erfassen. Besonders konnten sie einerseits nicht mit normalen Univalenten verwechselt werden (diese Gefahr besteht verstärkt durch die Quetschtechnik), andererseits waren sie durch (1) zu den stark terminalisierten Bivalenten abgegrenzt, zu denen es alle Übergänge gibt. Infolge der Quetschtechnik stellen diese so erfaßten F_{II} Minimumwerte dar. Dieser Fehler wird jedoch wahrscheinlich unwesentlich sein, außerdem hat er stets die gleiche Richtung.

Bei K 573/24 waren 5,12% der gesamten Bivalente F_{II} .

In Bildern mit weniger ausgeprägter, anormaler Kontraktion der Chromosomen scheint es möglich zu sein, 5—8 (oft 7) größere Univalente von dem Rest der Univalente zu unterscheiden. Diese großen Univalente sind möglicherweise die ungepaart bleibenden Roggenchromosomen. Diese Frage wurde aber noch nicht intensiv studiert, und weitere Untersuchungen an besseren Fixierungen sind zu exakter Klärung notwendig. v. BERG (1931) konnte bei *Aegilops triuncialis* $\times$ *S. cereale* die 7 größeren Roggenchromosomen, welche stets univalent waren, von den zum Teil nicht gepaarten und stets kleineren *Aegilops*-Chromosomen unterscheiden. KAGAWA und CHIZAKI (1934) hatten Schwierigkeiten in der exakten Größenfeststellung der Chromosomen dieser Kombination („owing to the foreshortening of chromosomes“), bestätigten aber im großen und ganzen v. BERGS Befund und fanden 5—8 größere Univalente.

Secale cereale $\times$ *A. intermedium* (bzw. *glaucom*) wurde bisher dreimal mit unterschiedlichen Ergebnissen untersucht.

LUBIMOVA (1937) fand 0—5 F_{II} und eine Mode von 3 (—4) bei 30 untersuchten PMZ. Mir ist es nicht möglich, auf ihren Bildern, meist Polansichten, Bivalente und Multivalente von Univalenten und Fragmenten zu unterscheiden (vgl. GAUL 1953b), da die Chromosomen hier meist als nicht definierbare Chromatinkörper dargestellt sind. Dies ist LUBIMOVA selber offenbar auch nicht möglich, da sie solche Klumpen als „Chromosomeneinheiten“ auszählt und im Hinblick auf die somatische $2n$ Zahl 28 indirekt, durch additive Methode, auf die Zahl an Bivalenten und Univalenten schließt. Im übrigen haben die Bilder eine gewisse Ähnlichkeit mit solchen, die von mir wegen zu starker Chromosomenkontraktion (ei- oder kugelförmig) nicht ausgezählt werden konnten. Auch KOSTOFF (1941a, S. 184) hat ähnliche Kritik an LUBIMOVAS Beobachtungen geübt.

FAVORSKY (1937b) fand bei der gleichen Kombination „bis zu 10 Bivalente“. Leider war es mir bisher nicht möglich, diese Arbeit im Original einzusehen.

ELLENGORN und PETROVA (1948) geben an, bei *A. glaucum* $\times$ *S. cereale* durch besondere Färbetechnik, die elterlichen Chromosomen in M_I voneinander unterscheiden zu können. Es wurden „7 hell gefärbte und eine viel größere Zahl dunkel gefärbter Chromosomen beobachtet. Infolgedessen gehören die 7 hell gefärbten Chromosomen dem Roggen und die dunkel gefärbten der Quecke. Die Roggenchromosomen bleiben univalent, während ein Teil der Queckenchromosomen die Fähigkeit zur Autosynthese hat und untereinander konjugiert. Wir beobachten keine Konjugation verschieden gefärbter Chromosomen.“ Die Zahl der gepaarten *intermedium*-Chromosomen wird nicht angegeben und kann auch aus der einzigen Abbildung (Fig. 1) nicht entnommen werden. In dieser sind auch Bivalente von Univalenten nicht zu unterscheiden. Hingegen können 21 „Chromosomeneinheiten“ festgestellt werden, was $7_{II} + 14_I$ entsprechen könnte.

3. *T. durum* und *dicoccum* $\times$ *A. intermedium* ($2n = 35$).

Die meisten bei $4n$ *Triticum* $\times$ *A. intermedium* dargestellten Auszählungen wurden an 50 und an 20 PMZ durchgeführt, was in Tabelle 8 vermerkt ist. Die Anzahl der ausgezählten PMZ in Tabelle 9 entspricht bei denselben Pflanzen den Werten in Tabelle 8. Sämtliche Auszählungen bei $6n$ *Triticum* $\times$ *A. intermedium* basieren einheitlich auf 50 PMZ (Tabellen 10, 11, 12, 16). Alle Auszählungen der *Triticum*-Bastarde wurden an PMZ einer Ähre und einer Fixierung durchgeführt. Meist wurde nur eine Anthere benutzt, etwas seltener 2 oder 3 Antheren eines Blütchens und nur vereinzelt Antheren aus unterschiedlichen Blütchen. Staubgefäße aus den beiden zuoberst und den beiden zuunterst inserierten Blütchen wurden nicht mit herangezogen.

Bei 28 untersuchten Pflanzen (Tabelle 8) wurden durchschnittlich Bindungszahlen von 4,2—8,1 gefunden und Moden von 4—9. Die Gesamtvariation der Bindungen schwankt von 0—12. Maximal wurden streuungsmäßig 26 gebundene Chromosomen je Zelle beobachtet. $6_{II} + 1_{III}$ (Abb. 10) ist bei vielen Pflanzen eine typische Konfiguration. Auch $5_{II} + 2_{III}$ (Abb. 11) wurden nicht selten beobachtet. Die Ring-II und die Trivalente variieren insgesamt von 0—4 je Zelle. Die Trivalente kamen fast nur in V-Form vor (Abb. 10 und 11), sehr vereinzelt wurden sie auch in Y- und G-Form gefunden. Der Anteil der beiden letzteren scheint vielleicht für bestimmte Pflanzen (oder Fixierungen?)

Tabelle 8. *T. durum* $\times$ *A. intermedium*, Paarung in M_I .

Lfd. Nr.	Pflanze	Univalente je PMZ Durchschnitt	Bindungen je PMZ			Bivalente je PMZ			Trivalente je PMZ		Quadrivalente je PMZ		PMZ
			Durchschnitt	Mode	Variation	Stab - Ring Durchschnitt	Ring		Durchschnitt	Variation	Durchschnitt	Variation	
1	K 531/1	26,2	4,2	4	0—7	3,8	0,3	0—2	0,4	0—2	0	—	50
2	K 530/15	25,7	4,6	4	1—9	4,3	0,4	0—2	0,2	0—2	0	—	50
3	K 534/8	25,7	4,4	4	1—7	3,9	0,1	0—2	0,5	0—2	0	—	50
4	K 534/7	25,2	4,6	5	2—7	3,9	0,1	0—2	0,7	0—2	0	—	20
5	K 535/4	23,7	5,5	6	3—7	5,1	0,6	0—2	0,4	0—2	0	—	20
6	K 535/3	23,7	5,5	5—7	3—8	5,1	0,6	0—3	0,4	0—2	0	—	50
7	K 529/4	22,5	6,3	6	4—8	5,6	0,7	0—2	0,7	0—2	0	—	20
8	K 536/3	22,5	6,1	6—7	3—9	5,7	0,4	0—3	0,4	0—1	0	—	20
9	K 535/2	22,3	6,1	7	3—9	5,5	0,6	0—4	0,6	0—2	0	—	50
10	K 534/5	22,2	6,1	6	4—8	5,6	1,4	0—4	0,6	0—2	0	—	50
11	K 530/6	21,7	6,5	6	4—10	6,2	0,7	0—3	0,3	0—2	0,02	0—1	50
12	K 534/1	21,6	6,3	6	4—9	5,6	0,7	0—2	0,8	0—2	0	—	50
13	K 529/5	21,3	6,4	7	4—9	5,3	0,8	0—2	1,1	0—2	0	—	20
14	K 530/16	21,0	6,6	7	3—10	5,8	1,0	0—4	0,8	0—2	0,02	0—1	50
15	K 529/6	20,7	6,8	8	4—10	6,1	0,5	0—2	0,8	0—2	0	—	20
16	K 536/1	20,6	6,8	7	3—10	5,9	0,6	0—3	0,8	0—2	0	—	50
17	K 534/9	20,6	6,8	7	3—10	6,0	0,6	0—3	0,8	0—2	0,02	0—1	50
18	K 534/3	20,2	6,9	7	4—9	5,9	0,7	0—3	1,0	0—4	0	—	50
19	K 529/9	20,2	6,9	8	4—8	5,8	0,5	0—2	1,1	0—3	0	—	20
20	K 530/25	20,1	7,0	7	5—10	6,0	0,9	0—3	1,0	0—3	0	—	50
21	K 530/5	20,1	7,0	6	4—10	6,0	0,9	0—2	0,9	0—2	0,06	0—1	50
22	K 529/3	20,0	7,0	7	3—10	5,9	0,3	0—2	1,0	0—3	0,06	0—1	50
23	K 534/2	19,8	7,1	7	4—10	6,1	0,7	0—3	1,0	0—3	0	—	50
24	K 532/1	19,7	7,4	7	5—9	6,7	0,9	0—3	0,7	0—2	0	—	20
25	K 530/13	19,6	7,2	7	4—10	6,3	0,5	0—3	0,9	0—2	0	—	50
26	K 532/2	19,5	7,5	7—8	4—11	6,9	0,8	0—2	0,6	0—2	0	—	20
27	K 536/4	18,9	7,6	7	5—10	6,5	0,4	0—2	1,1	0—3	0	—	20
28	K 529/8	17,7	8,1	9	5—12	7,0	1,3	0—4	1,0	0—3	0	—	50

typisch zu sein. So wurden z. B. bei lfd. Nr. 3 in 50 PMZ 23 V_{III} und 4 Y_{III} beobachtet, bei Nr. 28 49 V_{III} und 5 G_{III} , während Y_{III} und G_{III} bei vielen anderen Pflanzen überhaupt nicht vorkamen. Die G_{III} wurden bevorzugt

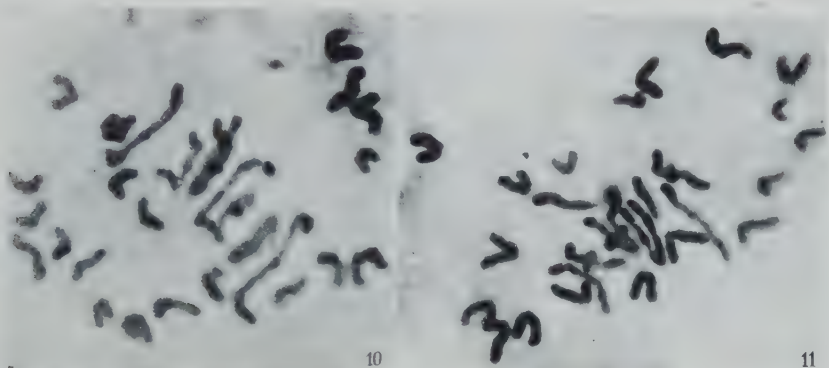


Abb. 10 u. 11. *T. durum* $\times$ *A. intermedium*, M_I , etwa 750 $\times$. Abb. 10. $1_{III} + 6_{II} + 20_I$.
Abb. 11. $2_{III} + 5_{II} + 19_I$.

bei Pflanzen mit hoher beobachteter Paarung gesehen. Quadrivalente kamen sporadisch in Zickzack- und einmal in U-Form vor.

Die 4n Weizenbastarde (Tabelle 9) zeigen in der Generalinie die gleiche Tendenz wie die Roggenbastarde (Tabelle 7). Mit ansteigender durchschnittlicher Chiasmenanzahl je Zelle von Pflanze zu Pflanze geht die Zunahme an gebundenen Chromosomen nicht parallel, sondern sie bleibt progressiv hinter dieser zurück (dies wird bei 6n Weizen $\times$ *A. intermedium* noch deutlicher in Erscheinung treten) (s. auch Abb 3). Mit der Zunahme der durchschnittlichen Chiasmenanzahl je Zelle steigt entsprechend auch der

Tabelle 9. *T. durum* und *dicoccum* $\times$ *A. intermedium*.
Chiasmenfrequenzen, gebundene Chromosomen und frühzeitig getrennte Bivalente. (Anzahl der ausgezählten PMZ wie in Tabelle 8.)

Nr.	Pflanze	Chiasmata je PMZ Durchschnitt	Gebundene Chromosomen je PMZ Durchschnitt	Chiasmen je gebundenes Chromosom	Frühzeitig getrennte Bivalente %
1	K 531/1	4,88	8,82	0,55	$13,02 \pm 7,1^1$
2	K 534/8	5,04	9,34	0,54	$16,58 \pm 8,0$
3	K 530/15	5,22	9,34	0,56	—
4	K 535/3	6,42	11,30	0,57	—
5	K 535/2	7,28	12,74	0,57	—
6	K 530/6	7,52	13,30	0,57	—
7	K 534/1	7,74	13,40	0,58	—
8	K 536/1	8,14	14,40	0,57	$8,75 \pm 4,95$
9	K 534/9	8,22	14,42	0,57	—
10	K 529/3	8,38	15,02	0,56	$9,12 \pm 5,0$
11	K 530/16	8,40	13,98	0,60	$1,38 \pm 2,05$
12	K 530/5	8,48	14,94	0,57	$5,89 \pm 4,05$
13	K 534/3	8,58	14,84	0,58	$2,36 \pm 2,7$
14	K 530/13	8,66	15,36	0,56	$6,67 \pm 4,2$
15	K 530/25	8,76	14,92	0,59	—
16	K 534/2	8,88	15,24	0,58	$8,50 \pm 4,8$
17	K 529/8	10,58	17,28	0,60	$3,98 \pm 3,1$

¹ 3 σ Fehlergrenze.

durchschnittliche Wert der Chiasmen je gebundenes Chromosom. Gleichzeitig fällt aber auch der Anteil der F_{II} an den gesamten Bivalenten (s. auch GAUL 1953a, Abb. 2).

Nur bei einer Pflanze (Tabelle 8, Nr. 16) wurde der Terminalisationskoeffizient mit 0,67 festgestellt.

Tabelle 10. *T. aestivum* $\times$ *A. intermedium*, Paarung in M_I .
(Alle Auszählungen basieren auf 50 PMZ.)

Lfd. Nr.	Pflanze	Univalente je PMZ Durchschnitt	Bindungen je PMZ			Bivalente je PMZ			Trivalente je PMZ		Quadrivalente je PMZ	
			Durchschnitt	Mode	Variation	Stab + Ring Durchschnitt	Ring		Durchschnitt	Variation	Durchschnitt	Variation
							Durchschnitt	Variation				
1	K 68/1	38,0	2,0	2	0—5	2,0	0	—	0	—	0	—
2	K 13/21	38,0	2,0	1	1—5	2,0	0	—	0	—	0	—
3	K 13/14	34,5	3,7	3	1—7	3,7	0,1	0—2	0	—	0	—
4	K 12/24	32,7	4,6	4	2—7	4,5	0,2	0—1	0,1	0—1	0	—
5	K 13/15	31,2	5,3	5	1—9	5,1	0,2	0—2	0,2	0—1	0	—
6	K 13/29	30,7	5,6	4	0—11	5,4	0,5	0—2	0,2	0—1	0	—
7	K 12/28	30,7	5,5	6	2—12	5,2	0,2	0—2	0,3	0—2	0	—
8	K 13/20	30,2	5,8	5—7	2—11	5,6	0,4	0—2	0,2	0—1	0	—
9	K 13/38	28,5	6,6	5	3—11	6,2	0,6	0—2	0,4	0—2	0	—
10	K 13/22	28,5	6,6	6	3—11	6,4	0,4	0—2	0,2	0—1	0	—
11	K 13/33	28,3	6,8	6	3—10	6,6	0,5	0—2	0,2	0—2	0	—
12	K 15/5	27,1	7,1	6	3—11	6,5	0,5	0—2	0,6	0—3	0	—
13	K 13/24	25,9	7,7	8	4—14	7,2	0,9	0—3	0,6	0—3	0	—
14	K 14/8	25,2	8,3	9	4—13	8,0	0,8	0—3	0,2	0—2	0	—
15	K 1/26	25,1	8,2	6—8	4—12	7,7	0,6	0—2	0,5	0—2	0	—
16	K 1/30	24,9	8,5	9—10	5—12	8,4	1,2	0—5	0,1	0—1	0	—
17	K 14/5	24,7	8,4	9	4—13	7,8	0,9	0—3	0,6	0—2	0	—
18	K 5/5	23,4	8,9	8	3—14	8,5	0,9	0—4	0,4	0—2	0	—
19	K 55/5 ¹	23,8	9,9	9	7—12	9,0	2,0	0—4	0,9	0—3	0	—
20	K 1/22 ¹	22,6	9,6	9	7—14	9,6	1,0	0—4	0,1	0—3	0	—
21	K 13/25	22,6	9,3	8	5—12	8,4	1,1	0—3	0,9	0—3	0	—
22	K 12/17	22,4	9,3	10	6—14	8,4	0,6	0—2	0,9	0—2	0	—
23	K 7/18	22,3	9,2	9	4—13	7,8	1,1	0—4	1,3	0—3	0	—
24	K 68/3	21,5	9,9	9—10	7—12	9,3	1,9	0—5	0,6	0—2	0	—
25	K 55/2	21,1	9,9	8—11	7—14	8,9	1,5	0—5	1,1	0—3	0	—
26	K 7/16	20,6	10,2	10	6—11	9,1	1,3	0—5	1,0	0—4	0	—
27	K 1/20	19,7	10,5	11	6—14	9,1	1,9	0—4	1,5	0—3	0,02	0—1
28	K 8/7	19,4	11,0	12	3—13	10,5	1,6	0—5	0,5	0—6	0	—
29	K 8/6	19,1	10,7	10	8—14	9,1	1,5	0—4	1,6	0—3	0	—
30	K 7/20	19,0	10,9	10	7—14	9,7	1,7	0—4	1,2	0—3	0	—
31	K 1/24	19,0	10,7	11	6—16	9,3	1,3	0—5	1,5	0—3	0	—
32	K 1/21	19,0	12,0	14	9—17	10,8	2,8	0—6	1,2	0—3	0	—
33	K 8/5	18,6	11,6	11	8—15	10,4	2,5	0—5	1,2	0—3	0	—
34	K 8/4 ¹	17,8	11,7	12	8—15	11,5	1,6	0—5	0,2	0—2	0	—
35	K 7/10	17,7	11,6	12	8—16	10,5	2,1	0—6	1,1	0—3	0	—
36	K 7/23	17,5	11,7	12—13	8—15	10,6	1,4	0—5	1,1	0—2	0	—
37	K 7/24	16,7	11,9	12	10—14	10,6	2,8	1—6	1,4	0—4	0	—
38	K 1/27	15,0	12,7	13	9—16	10,9	3,0	1—7	1,7	0—4	0,04	0—1
39	K 9/2	15,0	12,9	13	10—16	11,7	2,6	1—5	1,2	1—3	0,02	0—1
40	K 1/35	13,8	13,1	13	10—16	11,2	2,9	1—8	1,9	1—4	0	—

¹ Schlechte Fixierung, Auszählungen nicht ganz eindeutig.

4. *T. aestivum* $\times$ *A. intermedium* ($2n = 42$).

a) Metaphase I.

aa) Freilandfixierungen 1950. Die Paarung in dieser Kombination war extrem unregelmäßig, sowohl von Zelle zu Zelle innerhalb einer Pflanze als auch von Pflanze zu Pflanze. 40 Pflanzen (Tabelle 10) zeigten eine Variation der Bindungsdurchschnitte von 2,0—13,1 je Zelle, der Moden von 2—13 und eine totale Variation von 0—17 (Abb. 12, 13, 15, 16, 18). Die Schwankung innerhalb einer Pflanze betrug meist etwa 8 Bindungen, konnte aber bis zu 12 ansteigen.

Es wurden insgesamt 0—8 Ring-II gefunden und 0—6 Trivalente (letzteres nur einmal).

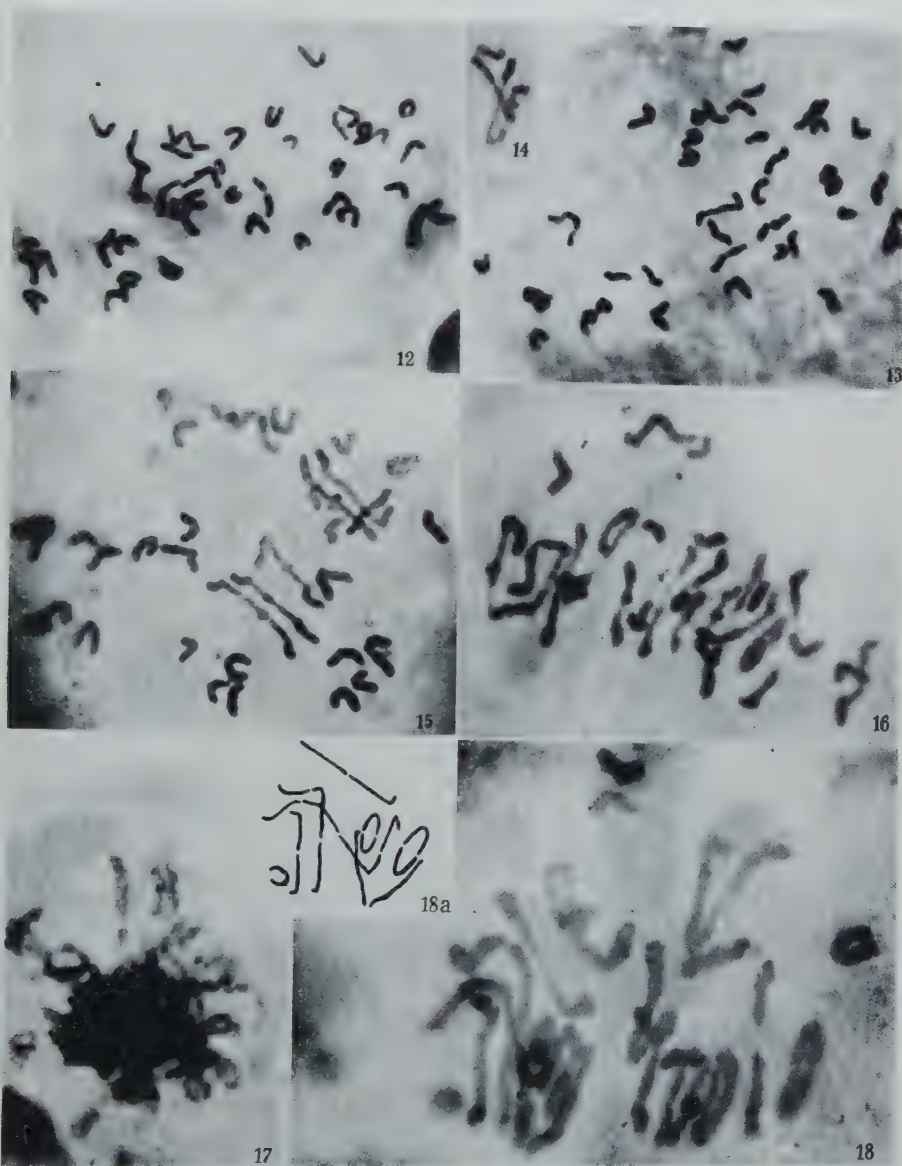


Abb. 12—18. *T. aestivum* $\times$ *A. intermedium*, Abb. 12—14, etwa 600 $\times$, Abb. 15, 16 etwa 750 $\times$, Abb. 17 etwa 900 $\times$, Abb. 18 etwa 1200 $\times$. Abb. 12—16, 18, M_I . Abb. 12. 42I. Abb. 13. 1II + 40I. Abb. 14. Asymmetrisches Trivalent (außerdem 1 Bivalent und 1 Univalent). Abb. 15. 5II + 32I. Abb. 16. 1VI + 1IV + 12II + 8I, oben ein nicht orientiertes Bivalent. Abb. 18. 1VI + 2IV + 3III + 7II + 5I. Schematische Zeichnung 18a zeigt den linken, unteren Teil der Zelle. Abb. 17. Mindestens 10II im Diplotän einer Ähre, die in M_I maximal 3II hatte.

In dieser Reihe von 40 Pflanzen sind alle Angaben der bisherigen Untersucher (Tabelle 1) einbeschlossen, sie geht sogar noch etwas darüber hinaus. Dieser

Tabelle 11. *T. aestivum* $\times$ *A. intermedium*, mehrfach untersuchte Pflanzen,
1950 } Freilandfixierung
1951 }

Lfd. Nr.	Pflanze	Chiasmata je PMZ Durchschnitt	Gebundene Chromosomen je PMZ Durchschnitt	Chiasmata je gebun- denes Chromosom Durchschnitt	Terminalisations- koeffizient ¹	Frühzeitig getrennte Bivalente ¹ %	Bindungen je PMZ		
							Durchschnitt	Mode	Variation
1	K 68/1 1950 F	1,98	3,96	0,50	—	—	1,98	2	0—5
		1,36	2,70	0,50	0,79 $\pm$ 14,25	48,48 $\pm$ 18,5	1,34	2	0—3
2	K 13/21 1950 T F	2,00	4,00	0,50	—	—	2,00	1	0—5
		2,00	3,76	0,53	0,97 $\pm$ 5,1	24,47 $\pm$ 13,3	1,88	2	0—7
		2,26	4,44	0,51	0,94 $\pm$ 6,8	21,30 $\pm$ 11,75	2,20	1	0—5
3	K 13/15 1950 F	5,68	10,76	0,53	—	—	5,28	5	1—9
		5,22	9,96	0,52	—	—	4,94	6	0—8
4	K 13/38 1950 1951	7,58	13,46	0,56	—	—	6,60	5	3—11
		6,36	11,50	0,55	0,53 $\pm$ 8,4	22,12 $\pm$ 7,6	5,60	5	3—9
5	K 15/5 1950 T	8,26	14,88	0,56	—	—	7,14	6	3—11
		8,52	14,68	0,58	—	—	7,04	7—8	2—12
6	K 14/5 1950 F	9,82	17,28	0,57	—	—	8,36	9	4—13
		9,10	16,06	0,57	—	9,14 $\pm$ 4,5	7,80	8—9	3—11
7	K 1/30 1950 1951	9,86	17,22	0,57	—	—	8,54	9—10	5—12
		9,16	15,72	0,58	0,74 $\pm$ 6,05	18,52 $\pm$ 5,95	7,86	7—8	3—11
8	K 68/3 1950 1951	12,48	20,48	0,61	—	—	9,94	9—10	7—12
		11,40	18,68	0,61	—	20,10 $\pm$ 6,0	9,04	9	5—13
9	K 7/10 1950 1951	14,76	24,30	0,61	—	—	11,60	12	8—16
		14,00	23,42	0,60	—	—	11,02	10	6—15
10	K 7/24 1950 1951	16,12	25,26	0,64	—	—	11,94	12	10—14
		16,34	25,52	0,64	—	6,26 $\pm$ 3,2	12,10	12	8—16
11	K 9/2 1950 F	16,72	27,04	0,62	—	—	12,94	13	10—16
		15,92	25,00	0,64	0,64 $\pm$ 5,0	6,14 $\pm$ 3,3	11,46	11	8—14
12	K 1/27 1950 1951 T F	17,42	26,98	0,65	—	—	12,64	13	9—16
		18,52	28,06	0,66	—	12,62 $\pm$ 4,3	12,92	12	10—16
		17,20	26,70	0,64	0,71 $\pm$ 4,6	7,53 $\pm$ 3,45	12,44	12	9—16
		20,54	30,46	0,67	0,62 $\pm$ 4,4	9,49 $\pm$ 3,85	13,86	14	12—16
13	K 1/35 1950 T F	17,98	28,22	0,64	—	—	13,14	13	10—16
		19,84	29,04	0,68	0,65 $\pm$ 4,5	4,47 $\pm$ 2,7	13,46	13	11—17
		20,48	30,10	0,68	0,68 $\pm$ 4,3	3,27 $\pm$ 2,3	13,84	13	12—16

¹ 3 σ Fehlergrenze.

Befund zeigt, daß die Widersprüche der verschiedenen Forscher durch den zu kleinen Umfang des von jedem einzelnen untersuchten Materials zu erklären sind.

Bereits die Untersuchungen des Jahres 1950 brachten den starken Hinweis, daß die von Pflanze zu Pflanze gefundenen Unterschiede im Wesentlichen nicht durch eine Umweltbeeinflussung der Paarung, sondern durch genotypische Unterschiede entstehen. Pflanzen, die unmittelbar nacheinander fixiert wurden und die direkt nebeneinander standen, wiesen wiederholt Unterschiede in den durchschnittlichen Bindungswerten bis zu 8, bzw. der Chiasmenfrequenz bis zu 11 auf. Auch kann vielleicht ein genotypischer Einfluß des *Agropyrum*-Elters auf hohe

totale Analyse in M_L . (Alle Auszählungen basieren auf 50 PMZ.)
 T = Trockenpflanzen }
 F = Feuchtpflanzen } Gewächshausfixierung 1951.

Bivalente je PMZ			Trivalente je PMZ		Quadrivalente je PMZ		Quintivalente je PMZ		Hexavalente je PMZ	
Stab + Ring Durchschnitt	Ring		Durchschnitt	Variation	Durchschnitt	Variation	Durchschnitt	Variation	Durchschnitt	Variation
	Durchschnitt	Variation								
1,98	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—
1,32	0	—	0,02	0—1	0	—	0	—	0	—
2,00	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—
1,88	0,12	0—2	0	—	0	—	0	—	0	—
2,16	0,02	0—1	0,04	0—1	0	—	0	—	0	—
5,08	0,20	0—1	0,20	0—1	0	—	0	—	0	—
4,74	0,10	0—1	0,16	0—2	0,02	0—1	0	—	0	—
6,24	0,62	0—2	0,36	0—2	0	—	0	—	0	—
5,30	0,46	0—2	0,30	0—2	0	—	0	—	0	—
6,54	0,52	0—2	0,60	0—3	0	—	0	—	0	—
6,44	0,88	0—3	0,60	0—3	0	—	0	—	0	—
7,80	0,90	0—3	0,56	0—2	0	—	0	—	0	—
7,22	0,78	0—4	0,54	0—2	0	—	0	—	0	—
8,40	1,18	0—5	0,14	0—1	0	—	0	—	0	—
7,56	1,00	0—3	0,30	0—2	0	—	0	—	0	—
9,34	1,94	0—5	0,60	0—2	0	—	0	—	0	—
8,44	1,76	0—5	0,60	0—2	0	—	0	—	0	—
10,5	2,06	0—6	1,10	0—3	0	—	0	—	0	—
9,64	1,60	0—4	1,38	0—3	0	—	0	—	0	—
10,56	2,80	1—6	1,38	0—4	0	—	0	—	0	—
10,54	2,80	1—6	1,32	0—4	0,12	0—2	0	—	0	—
11,74	2,60	1—5	1,16	1—3	0,02	0—1	0	—	0	—
9,14	2,06	0—4	2,14	1—5	0,04	0—1	0,02	0—1	0,02	0—1
10,86	3,04	1—7	1,70	0—4	0,04	0—1	0	—	0	—
10,62	3,32	0—6	2,22	0—4	0,04	0—1	0	—	0	—
10,36	2,70	0—6	1,80	0—4	0,12	0—1	0,02	0—1	0	—
10,56	3,48	1—6	2,70	0—5	0,26	0—1	0,04	0—1	0	—
11,20	2,90	1—8	1,94	1—4	0	—	0	—	0	—
10,28	3,44	1—8	2,06	0—4	0,38	0—2	0,06	0—1	0,08	0—1
11,00	3,82	1—8	2,40	0—5	0,20	0—1	0,02	0—1	0	—

oder niedrige F_1 -Paarung vorhanden sein. So haben alle K 13/- und K 12/-Pflanzen niedrige, die K 1/-Nummern hohe Bindungswerte (vgl. Tabelle 10), wobei sich allerdings in der Mitte der Reihe die Werte überschneiden. K 13/- und K 12/-Pflanzen besitzen den gleichen Queckenelter und unterschiedliche Weizeneltern (vgl. Tabelle 3). Sie stammen von A. 114/11, das wegen seiner Behaarung der Glumae und der Palea inferior im Sortiment des Erwin Baur-Institutes als *A. intermedium trichophorum* geführt wird. K 1/-Pflanzen stammen dagegen von einer typischen *glaucum*-Form, A. 33/1. In der Kombination $4n$ *Triticum* $\times$ *A. intermedium* stammt der Bastard mit höchster Paarung K 529/8

von dem gleichen A. 33/1 ab. A. 114/11 unterscheidet sich auch physiologisch von den anderen Elternpflanzen, es hat die bei weitem höchsten Ansatzprozente in den beiden *aestivum*-Kombinationen mit etwa 50–60% (Gesamtdurchschnitt bei 18%), ebenso wie die Geschwisterpflanze A. 114/13.

bb) *Trocken-Feucht-Versuch und Freilandfixierungen 1951.* Um die wichtige Frage nach dem genotypischen und ökologischen Paarungseinfluß exakter beantworten zu können, wurden (1) ein Teil der perennierenden Bastarde, nach Umpflanzung in anderen Boden, 1951 erneut im Freiland fixiert. (2) Weiterhin wurde ein „Trocken-Feuchtversuch“ angelegt, um den Einfluß der Bodenfeuchtigkeit auf die Paarung zu erfassen. 3 Pflanzen mit der höchsten Paarung des Jahres 1950, 3 mit der niedrigsten und 2 mit mittlerer wurden geklont und in Töpfen in das Gewächshaus gestellt. Von jeder Pflanze waren also zwei genetisch gleiche Teilstücke vorhanden. Einige Tage bevor die Anthese begann, wurde jeweils eine Klonhälfte nicht mehr gegossen, die andere Hälfte gut feucht gehalten. 7 Tage nach Beginn dieser Behandlung wurden Metaphasen fixiert. Zu dieser Zeit waren die Böden in den nicht begossenen Töpfen extrem ausgetrocknet, ihre Pflanzen hatten eingerollte Blätter, dicke Wachselbeläge und waren dem Absterben nahe. Die Feuchtpflanzen waren in gutem turgeszentem Zustand. Leider gab nur ein Teil der Gewächshausfixierungen eindeutig auszählbare Metaphasenbilder. Alle untersuchten Trockenfixierungen hatten gegenüber den entsprechenden Feuchtfixierungen eine geringere Chiasmenfrequenz (Tabelle 11). Die Pflanze K 1/35 scheidet für einen exakten Vergleich aus, da hier die Fixierung des Trockenklones am 15. 6. erfolgte, die des Feuchtklones am 18. 6. (unterschiedliche Temperatur und Luftfeuchtigkeit), während bei den anderen Pflanzen trocken und feucht zur gleichen Zeit fixiert wurden. Bei der Pflanze K 13/21 kann die Differenz nicht statistisch gesichert werden, die Stichprobengröße (Anzahl der gebundenen Chromosomen) ist verhältnismäßig klein. Dagegen läßt sich bei der Pflanze K 1/27 der Unterschied zwischen Trocken- und Feuchtfixierung der gebundenen Chromosomen statistisch sehr gut sichern.

Zunächst ergab der Homogenitätstest der gebundenen Chromosomen (es wurden je Zelle 40 vorhandene oder „paarungsfähige“ Chromosomen angenommen, Begründung in Teil C und GAUL 1953a) ein $\chi^2_{39} = 60,68$. Dies entspricht einer Überschreitungswahrscheinlichkeit $P = 0,12$ (PÄTAU 1942, Tafel III) und zeigt, daß keine außerzufälligen Inhomogenitäten vorkommen. Auch der experimentelle Fehler ist, wie der Homogenitätstest zeigt, unbedeutend.

Die Häufigkeiten der gebundenen Chromosomen betrugen

$$\text{F-Pflanze } P_o = \frac{50 \times 30,46 \times 100}{50 \times 40} = 76,15\%,$$

$$\text{T-Pflanze } P_u = \frac{50 \times 26,70 \times 100}{50 \times 40} = 66,75\%.$$

Entsprechend erhält man eine tatsächliche Differenz = 9,40%.

Die größte erlaubte Differenz ist $3\sigma = 4,6\%$ (KOLLER 1943, Tafel 5). Hieraus folgt (nach dem von KAPLAN 1951, S. 353 vorgeschlagenen Rechengang) $\chi = 6,13$ und entsprechend $P = 10^{-9}$ (PÄTAU 1942, Tafel II).

Der Trockenklon K 1/27 hat gegenüber dem Feuchtklon 16,3% weniger Chiasmen. Bei *Oenothera* wurde nach ähnlicher Trockenbehandlung ein „Endbindungsausfall“ bis zu 20,31% gegenüber 4,71% der Normalkultur erhalten (OEHLKERS 1937, KISCH 1937). STRAUB (1938) fand bei *Campanula persicifolia* nach Trockenkultur starken Bindungsausfall. Auch PRAKKEN (1943) führte die

Unterschiede zwischen Fixierungen von asynaptischem Roggen des einen Jahres gegenüber dem anderen zum Teil auf die lange Trockenheit zurück, die während des Sommers 1940 herrschte.

Die Bedeutung des osmotischen Wertes (WIEBALCK 1940/41) für die Chiasmenfrequenz wird also durch diesen Versuch erneut demonstriert und mindestens ebenso ist mit dem Einfluß der Temperatur zu rechnen. Diese Umwelteffekte stehen aber sehr weit hinter dem genotypischen Einfluß zurück, wie Tabelle 11 zeigt. Von 13 der perennierenden Bastardpflanzen liegen nämlich $2-4 \times 50$ PMZ-Auszählungen vor, (1) Freilandfixierung 1950, (2) Freilandfixierung 1951, (3) Trockenfixierung 1951, (4) Feuchtfixierung 1951. Die relative Paarungskonstanz ist erstaunlich (Tabelle 11), und *es kann keinem Zweifel unterliegen, daß die Unterschiede zwischen den verschiedenen Pflanzen ganz entscheidend genotypischer Natur sind*; d. h. die Asynapsis der Bastarde wird genetisch kontrolliert.

Es muß nun weiter auf die starke Multivalentbildung bei den Pflanzen mit hoher Chiasmenfrequenz hingewiesen werden (Tabelle 11). Wie bei den 4n Weizenbastarden kommen neben den V_{III} ganz vereinzelt Y_{III} vor. Bei den Pflanzen mit hoher Paarung erscheinen in sehr geringer Frequenz Ring-III. Am häufigsten waren sie bei einer Pflanze (K 1/35T), die von 103 $_{III}$ 8 Ring-III hatte. Gelegentlich kamen asymmetrische Bivalente und auch Trivalente (Abb. 14)

vor. Quadrivalente erscheinen meist als Ketten (Abb. 16 und 18), gelegentlich U-förmig und sehr vereinzelt als Ringe. In V- und VI-Verbände, die meist als

Tabelle 12. *T. aestivum* $\times$ *A. intermedium*,
Chiasmenfrequenzen und gebundene Chromosomen.
(Alle Auszählungen basieren auf 50 PMZ.)

Lfd. Nr.	Pflanze	Chiasmata je PMZ Durchschnitt	Gebundene Chromosomen je PMZ Durchschnitt	Chiasmata je gebundenes Chromosom Durchschnitt
1	K 68/1	1,36	2,70	0,50
2	K 68/1	1,98	3,96	0,50
3	K 13/21	2,00	4,00	0,50
4	K 13/21	2,00	3,76	0,53
5	K 13/21	2,26	4,44	0,51
6	K 13 14	3,92	7,48	0,52
7	K 13/15	5,22	10,04	0,52
8	K 13 15	5,68	10,76	0,53
9	K 12/28	6,06	11,34	0,52
10	K 13/38	6,36	11,50	0,55
11	K 13/22	7,28	13,50	0,54
12	K 13 33	7,46	13,68	0,55
13	K 13 38	7,58	13,56	0,56
14	K 15/5	8,26	14,88	0,56
15	K 15,5	8,52	14,68	0,58
16	K 14/5	9,10	16,06	0,57
17	K 1/30	9,16	16,02	0,57
18	K 13/24	9,20	16,06	0,57
19	K 1/26	9,32	16,90	0,55
20	K 14/8	9,34	16,80	0,56
21	K 14/5	9,82	17,28	0,57
22	K 1/30	9,86	17,22	0,57
23	K 12/17	10,86	19,60	0,55
24	K 13/25	11,30	19,42	0,58
25	K 68/3	11,40	18,68	0,61
26	K 7 18	11,60	19,70	0,59
27	K 68 3	12,48	20,48	0,61
28	K 55/2	12,52	20,94	0,60
29	K 7/16	12,60	21,40	0,59
30	K 8/7	13,16	22,62	0,58
31	K 1/20	13,42	22,28	0,60
32	K 1/24	13,60	23,00	0,59
33	K 8/6	13,74	22,86	0,60
34	K 7/10	14,00	23,42	0,60
35	K 7/23	14,22	24,54	0,58
36	K 7/10	14,76	24,30	0,61
37	K 9/2	15,92	25,08	0,63
38	K 7/24	16,12	25,26	0,64
39	K 7/24	16,34	25,52	0,64
40	K 9/2	16,72	27,04	0,62
41	K 1/27	17,20	26,70	0,64
42	K 1/27	17,42	26,98	0,65
43	K 1/35	17,98	28,22	0,64
44	K 1/27	18,52	28,06	0,66
45	K 1/35	19,84	29,04	0,68
46	K 1/35	20,48	30,10	0,68
47	K 1/27	20,54	30,46	0,67

Ketten beobachtet wurden (Abb. 16 ganz links), sind mitunter Ring-II eingeschlossen (Abb. 18). Maximal wurden in einer Zelle 10 Ring-II festgestellt (einschließlich der in Multivalentkonfigurationen enthaltenen).

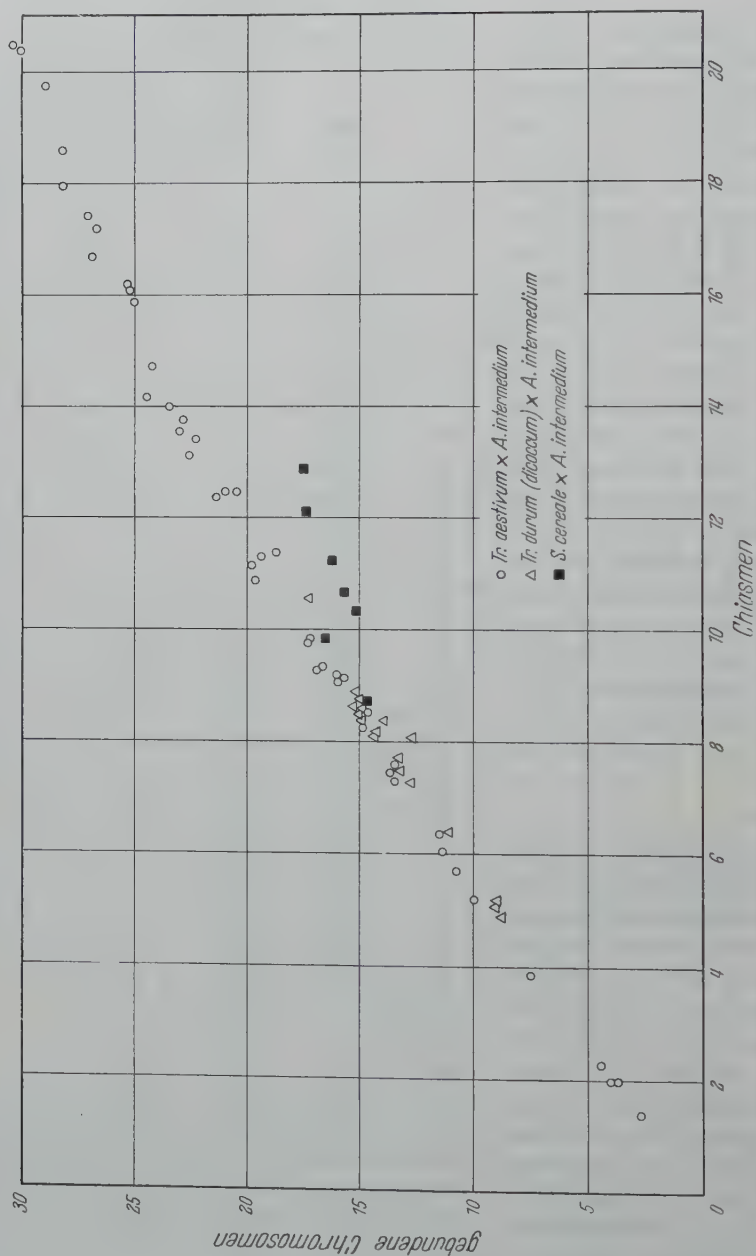


Abb. 19. Durchschnittliche Chiasmenanzahl je Zelle und durchschnittliche Anzahl gebundener Chromosomen je Zelle in M_1 . Jeder Punkt stellt unterschiedliche Pflanzen bzw. Fixierungen dar und basiert bei 4n und 6n *Triticum* $\times$ *A. intermedium* auf Auszählungen von 50 PMZ, bei *S. cereale* $\times$ *intermedium* zum Teil auf weniger Zellen, jedoch mindestens auf 25 (Tabelle 1, 9, 12).

Zweimal wurden streuungsmäßig maximal 28 Chiasmen je Zelle ausgezählt, 3mal 37 (Abb. 18) gebundene Chromosomen je Zelle, 1mal 36 und 1mal 35.

Die Beziehung Chiasmenanzahl je Zelle: Anzahl gebundene Chromosomen je Zelle, auf welche schon bei den vorher beschriebenen Bastarden hingewiesen wurde, tritt hier, als eine Folge des umfangreichen Materials und der großen durchschnittlichen Streubreite, am deutlichsten in Erscheinung. Der Anstieg der gebundenen Chromosomen hält nicht mit dem Anstieg der Chiasmen Schritt, sondern bleibt hinter diesem progressiv zurück (Tabelle 12, Abb. 19). Entsprechend nimmt wieder die Chiasmenanzahl je gebundenes Chromosom zu. Äußerst selten finden sich bei den Pflanzen mit maximal beobachteter Paarung schon Bivalente mit 3 Chiasmen (Abb. 16, linkes kleines Ring-II). Weiterhin wird der Anteil der terminalisierten Chiasmen und der F_{II} mit zunehmender Chiasmenfrequenz fortlaufend geringer (Tabelle 11 und GAUL 1953a, Abb. 1 und 2). Aber es gibt signifikante Abweicher von dieser Tendenz [z. B. K 13/38—1951 (Nr. 4)].

Diese Untersuchungen des Jahres 1951 erweitern das Bild des Jahres 1950 noch wesentlich und ermöglichen eine statistische Behandlung der beobachteten Paarungsvariation im großen Rahmen. Folgerungen sollen im Teil C und einer Sonderarbeit (GAUL 1953a) gezogen werden. Insbesondere wird es möglich sein, Aussagen über die maximale (potentielle) Paarungsfähigkeit zu machen, die jenseits der in dem untersuchten Material beobachteten (realisierten) Paarung liegt.

b) Prophase.

Die Erkenntnis der genotypischen Kontrolle der Asynapsis in den Bastarden ließ es wünschenswert erscheinen festzustellen, ob der metaphasische Paarungsausfall mit einem Prophasenpaarungsausfall parallel geht oder ob eine mehr oder weniger vollständige Initialpaarung stattfindet. Zu dem Zeitpunkt, als diese Frage untersucht werden konnte, waren leider die Fixierungen für Prophasenbeobachtungen und insbesondere Pachytänbeobachtungen nicht mehr einwandfrei zu gebrauchen. Trotzdem konnte mit vollständiger Sicherheit bei Pflanzen mit geringster Metaphasenpaarung (z. B. K 68/1, K 13/21) im Pachytän weitgehende Paarung beobachtet werden. Ein großer Teil der Chromosomenfäden (wenn nicht fast alle?), erschien auf längere Strecken hin doppelt und stellte gepaarte Chromosomen oder gepaarte Chromosomenabschnitte dar.

Für Beobachtungen im Diplotän war das Material noch etwas besser geeignet. Aber hier finden sich gewöhnlich die Chromosomen bei den Bastarden in einem dichten nicht analysierbaren Knäuel, und dieser Zustand hält im allgemeinen bis zur späten Diakinese an. Einzelne Chromosomenpaare oder Chromosomen liegen indessen des öfteren außerhalb des Knäuels. Es kann nicht entschieden werden, ob dies ein natürlicher Zustand oder eine Folge der Quetschtechnik ist. Weiterhin sind häufig aus dem Knäuel herausragende Chromosomenenden der Beobachtung zugänglich. Abb. 17 zeigt solch ein typisches Bild¹ (nicht selten sind aber noch mehr Bivalente gänzlich außerhalb des Knäuels isoliert). Mit Sicherheit können hier 10_{II} festgestellt werden, wahrscheinlich aber noch 2 bis 3 weitere (das Knäuel war in Wirklichkeit nicht so schwarz wie im Bild, sondern der Beobachtung etwas zugänglicher). Bei dieser Pflanze (K 68/1F, Tabelle 11) wurden in der gleichen Ähre in M_I streuungsmäßig maximal nur 3_{II} je Zelle

¹ Die Berührungspunkte der beiden Partnerchromosomen der Bivalente stellen sehr wahrscheinlich keine Chiasmen dar, sondern sind eine Folge des zu alten Fixierungszustandes (vor allem Essigsäurequellung) oder/und ein Fixierungsartefakt.

festgestellt und durchschnittlich 1,34 Bindungen. 19 solcher Diplotänzellen mit isolierten Chromosomen oder mit solchen, die aus dem Knäuel herausragten, wurden statistisch mit Minimalwerten an Bivalenten erfaßt. Sie haben durchschnittlich 9,9 Bivalente. Es muß aber nochmals betont werden, daß dieser Auszählung keinerlei quantitative Bedeutung zukommt. Vielmehr handelt es sich um ganz ausgesprochene Mindestwerte. Die Zahl der tatsächlich vorhandenen gepaarten Chromosomen (vor allem im undurchsichtigen Knäuel) ist wahrscheinlich größer und möglicherweise sogar sehr viel größer. Im frühen Diplotän sind die außerhalb des Knäuels liegenden Chromosomen meist Bivalente, mit fortschreitenden Stadien erscheinen mehr Univalente. Es ist offensichtlich, daß weitgehende Pachytänpaarung stattgefunden hat, aber keine bzw. nur sehr geringe Chiasmenbildung. Deshalb fallen die ursprünglich gepaarten Chromosomen bis zur M_I sukzessiv auseinander und erscheinen hier als Univalente. Genauere Beobachtungen, vor allem auch über den Umfang der Initialpaarung, sind nur an besseren und frischeren Fixierungen möglich.

Die Asynapsis der *Triticum* $\times$ *A. intermedium*-Bastarde folgt also in ihrem Verlauf den typischen Fällen der genisch bedingten Asynapsis, wie sie zahlreich beschrieben worden sind und später (GAUL 1953a) diskutiert werden sollen.

C. Diskussion und Folgerungen.

I. Die Variabilität der Paarung.

Bei den *Triticum*-Bastarden ist die Variabilität der Paarung von Zelle zu Zelle innerhalb einer Pflanze auffallend groß. Noch größer sind die Unterschiede von Pflanze zu Pflanze. Für die *T. aestivum* $\times$ *A. intermedium*-Reihe mit allen Übergängen von durchschnittlich 1,36—20,54 Chiasmen je Zelle ist mir, jedenfalls in bezug auf Hybriden, kein Parallellfall aus der Literatur bekannt.

Bevor genomanalytische Folgerungen aus den Paarungsergebnissen der verschiedenen Kombinationen gezogen werden können, ist es deshalb notwendig, sich mit diesem Problem der Asynapsis auseinanderzusetzen. Vor allem entsteht die Frage, welche Anzahl (partiell) homologer Chromosomen z. B. in der Kombination $6n$ *Triticum* $\times$ *A. intermedium* zugrunde gelegt werden soll; ob der niedrigste oder höchste Durchschnittswert der Bindungen je Zelle der sich unterscheidenden Pflanzen gelten soll, der Gesamtdurchschnitt aller vorgenommenen Bindungsauszahlungen, die niedrigste oder höchste Mode, der höchste Paarungswert, der streuungsmäßig in einer einzelnen Zelle beobachtet wurde oder irgendein anderer Wert.

Über das Problem der Asynapsis und seine Bedeutung für die genomanalytischen Methoden wird im Rahmen eines ausführlichen Literaturüberblickes gesondert berichtet (GAUL 1953a). Im folgenden sollen nur die wichtigsten Ergebnisse dieser Untersuchung wiedergegeben werden.

Es ist gezeigt worden (Teil B, 4a, bb), daß der durch extrem unterschiedliche Umweltbedingungen induzierte Einfluß auf die Chiasmenfrequenz die durchschnittliche Anzahl der Chiasmen je Zelle maximal um 15—20% veränderte. Der genotypische Einfluß variiert diese Anzahl jedoch um rund 1000% (von etwa durchschnittlich 2 auf durchschnittlich 20 Chiasmen).

Nun konnte eindeutig sichergestellt werden (GAUL 1953a), daß dieser, für die Paarungsvariabilität entscheidende genotypische Einfluß nicht auf unterschied-

lich großer Strukturheterozygotie der in den verschiedenen Bastardpflanzen einer Kombination vereinigten Genome beruht. Zumindest muß solch eine Annahme unterschiedlicher Homologiegrade der Genome verschiedener Elternpflanzen gleicher Kombination als wesentliches Erklärungsmoment ausscheiden. Als wichtigstes Argument für diese Auffassung wurde angeführt, daß F_1 -Pflanzen, die von gleichen Eltern stammen, zur gleichen Zeit und unter gleichen Bedingungen fixiert wurden, Unterschiede in der durchschnittlichen Paarung bis zu 8 Bindungen aufwiesen (Tabelle 10, K 6S/1 und K 6S/3 u. a.). Es ist aber nicht vorstellbar, daß die von einem Agropyrum-Elter stammenden Gameten derartig strukturverschiedene Chromosomengarnituren besitzen.

Es bleibt deshalb für die Erklärung der Asynapsis nur die Annahme spezifischer Genwirkungen. Die unterschiedliche Chiasmenfrequenz wird in den verschiedenen Bastardpflanzen offensichtlich durch spezifische Gene bzw. Genkombinationen gesteuert. Durch die Heterozygotie des Fremdbestäubers *A. intermedium* kommt offenbar eine Vielzahl unterschiedlicher Gene, welche den Umfang der Asynapsis kontrollieren, in die Bastardpflanzen und verursacht so die vielen kleinen Unterschiede, die von Pflanze zu Pflanze bestehen. Es wurde vermutet, daß an der Paarungsreduktion viele Gene beteiligt sind.

Auch stehen die Prophasenbeobachtungen von *T. aestivum* $\times$ *A. intermedium* in Übereinstimmung mit den typischen Fällen genisch kontrollierter Asynapsis reiner Arten, wie sie häufig in der Literatur beschrieben worden sind (vgl. GAUL 1953a). Es findet nämlich weitgehende Pachytän- und Diplotänpaarung statt, aber infolge von Chiasmenreduktion fallen die gepaarten Chromosomen bis zur Metaphase I sukzessiv auseinander und treten hier als Univalente auf. Weiterhin wird mit abnehmender durchschnittlicher Paarung in M_I der Terminalisationskoeffizient im allgemeinen größer. Auch diese Erscheinung stimmt mit einer Reihe von anderen Fällen genisch bedingter Asynapsis reiner Arten überein, die wie *A. intermedium* proterminale Paarung (DARLINGTON 1940) haben.

Aus der Erkenntnis genisch kontrollierter Asynapsis bei *Triticum* $\times$ *A. intermedium*, insbesondere im Zusammenhang mit der Beobachtung umfangreicher Prophasenpaarung, müssen wichtige genomanalytische Folgerungen gezogen werden. Die Anzahl aller tatsächlich „paarungsfähigen“ Chromosomen (d. h. aller Chromosomen, die homologe Beziehungen zu einem oder mehreren Partnerchromosomen haben) in jeder Kreuzungskombination wird nämlich mindestens so groß sein wie die Anzahl gebundener Chromosomen, die maximal in einer Zelle beobachtet wurde. Wenn in der M_I meist diese Anzahl nicht mehr realisiert war, so ist dies eine Folge des asynaptischen Auseinanderfallens ursprünglich gepaarter Chromosomen. Nicht der Durchschnittswert oder die Mode der in M_I beobachteten Bindungswerte haben also zu gelten, sondern die größte Anzahl gebundener Chromosomen, die überhaupt in einer Zelle gesehen wurden. Aber diese Anzahl hat als ausgesprochener Minimumwert zu gelten, da es durchaus möglich ist, daß sie durch nicht untersuchte Bastardpflanzen übertroffen wird, die außerhalb der zufällig untersuchten genetischen Breite liegen. Diese Erkenntnis führt deshalb zu der Frage nach der tatsächlichen Anzahl aller Chromosomen mit homologen Beziehungen.

Es war nun möglich (GAUL 1953a) auf einer mathematischen Grundlage diese potentielle Anzahl paarungsfähiger Chromosomen zu errechnen, die jenseits der

in dem untersuchten Material maximal realisierten (d. h. in M_I beobachteten) liegt, und es wurde die Hypothese der universellen Gültigkeit dieser Methode aufgestellt. Wie schon Abb. 19 zeigt, besteht offensichtlich eine strenge Gesetzmäßigkeit der Chiasmenverteilung auf die Chromosomenarme, und es ist möglich, den Endwert der Kurve (gebundenen Chromosomen/Chiasmen) zu berechnen. Aus der bei zufälliger Chiasmenverteilung zu erwartenden parabolischen Abhängigkeit der gebundenen Chromosomen von den Chiasmen, von welcher empirisch keine Abweichung festgestellt werden konnte, folgt nämlich für die Anzahl p paarungsfähiger Chromosomen je Zelle $p = \frac{X^2 + X - B}{(2X - B) \cdot Z} \cdot (X \text{ und } B = \text{Anzahlen ausgezählter Chiasmen und gebundener Chromosomen in der Anzahl } Z \text{ ausgezählter Zellen einer Fixierung.})$

Auf diesem Wege wurden für $6n \text{ } Triticum \times A. intermedium$ etwa 40 paarungsfähige Chromosomen errechnet, für $4n \text{ } Triticum \times A. intermedium$ etwa 32 und für $Secale cereale \times A. intermedium$ etwa 20. Die Berechnung des letzten Wertes erscheint jedoch etwas unsicher, vor allem wegen der starken Anomalien in dieser Kombination, die unter anderem auch vermutlich zu Pseudobivalenten und Pseudomultivalenten führen (GAUL 1953a; b).

Diese Werte müssen den genomanalytischen Betrachtungen zugrunde gelegt werden.

II. Genomatische Beziehungen zwischen *Triticum* und *A. intermedium*.

1. Autopolloider Charakter zweier Genome von *A. intermedium* ($I_1 I_2$).

Bei den 9 untersuchten Pflanzen von *Secale cereale* $\times$ *A. intermedium* spielt die genisch bedingte Paarungsbegrenzung keine so große Rolle wie bei den *Triticum*-Bastarden, wenngleich sie vermutlich auch hier vorhanden ist. In Anbetracht der isolierten Stellung des Roggengenoms innerhalb der *Triticinae* (s. Einleitung) ist die Vermutung berechtigt, daß die beobachtete Paarung zumindest im wesentlichen autosyndetisch zu erklären ist. Diese Annahme kann nahezu als sicher gelten, wenn man (1) die Quadrivalentbildung von *intermedium* berücksichtigt und (2) eine Reihe von Befunden und Widersprüchen aus der Literatur betrachtet, die nur unter dem Gesichtspunkt der Autosyndese, zum Teil verbunden mit Asynapsis, zu erklären sind.

Da bei *Secale* $\times$ *A. intermedium* meist 7 Bindungen oder mehr beobachtet wurden, wird gefolgert, daß 2 Genome von *intermedium* starke Homologien besitzen. Sie sind aber wahrscheinlich nicht vollständig homolog. Hierfür spricht: (1) die verhältnismäßig geringe Quadrivalentbildung bei *intermedium* und (2) die relativ geringe Chiasmenanzahl je Bivalent bei *Secale* $\times$ *A. intermedium*. Mehr als 2 Chiasmen je Bivalent wurden hier mit Sicherheit nicht festgestellt (allerdings bei Ring-III 2 Chiasmen je gepaartem Chromosomenarm). Bei vollständiger Homologie der beiden Genome, die als I_1 und I_2 bezeichnet werden sollen, wären bei *Secale* $\times$ *A. intermedium*, entsprechend der Chiasmenfrequenz bei reinem *intermedium*, bis zu 4 Chiasmen zu erwarten, wenn man unterstellt, daß die genisch kontrollierte Paarungsreduktion keinen wesentlichen Einfluß hat. Da streuungsmäßig bis zu 6 Ring-II beobachtet wurden, kann andererseits auf beträchtliche Homologien geschlossen werden. Jedes oder fast jedes der I_1 -Chromosomen muß auf beiden Chromosomenarmen homologe Segmente mit den ent-

sprechenden I_2 -Chromosomen besitzen. Als höchster Durchschnittswert bei den unterschiedlichen Bastardpflanzen wurde allerdings nur 3,0 Ring-II festgestellt. Die Gründe dieser Unsicherheit der Paarung (Paarungsvariation) dürften vermutlich in erster Linie in strukturellen Unterschieden zwischen I_1 und I_2 liegen (vgl. GAUL 1953a). Je stärker die Partnerchromosomen strukturell differenziert sind, um so seltener wird es möglich sein, solche Genkombinationen und solche Umweltbedingungen zu finden, welche die Schwierigkeiten, die solche verzögerten und komplizierten Paarungsvorgänge gebrauchen, durch eine generelle Erhöhung der Chiasmenfrequenz (d. h. wahrscheinlich vor allem durch verlängerte Anlagerungszeit) ausschalten und dadurch die potentiell vorhandenen Paarungsmöglichkeiten (z. B. 7 Ring-II) annähernd konstant realisieren. Deshalb fordern KIHARA und LILIENFELD (1932, KIHARA 1937) zu Recht, daß bei homologen Genomen ziemlich regelmäßig alle Bivalente als Ring-II erscheinen müssen.

Die über 7 hinausgehenden, streuungsmäßigen Bindungszahlen bei *Secale* $\times$ *A. intermedium* können durch haploide Paarung des Roggengenoms und des dritten *intermedium*-Genoms X_m in sich erklärt werden. Die von NORDENSKIÖLD (1939) und LEVAN (1942) bei haploidem Roggen beobachtete Paarung liegt in dieser Größenordnung. Im Durchschnitt von 4 Pflanzen wurde hier in rund 23% der Zellen 1_{II} gezählt und in 0,03% waren sogar alle 7 Chromosomen gebunden ($2_{II} + 1_{III}$). Im einzelnen finden sich aber zwischen den Pflanzen und Fixierungen große Unterschiede, maximal wurden durchschnittlich 0,83 Chiasmen je Zelle festgestellt. Es ist deshalb nicht nötig, gewisse Beziehungen des dritten Genoms von *intermedium* zu *Secale* anzunehmen, wenngleich eine solche Möglichkeit, besonders im Hinblick auf die (in diesem Fall nicht sicheren) Ergebnisse der errechneten paarungsfähigen Chromosomen offenbleiben muß.

Bei einer Pflanze (K 573/24, Tabelle 6) wurde die Häufigkeit der Brücken je Zelle statistisch erfaßt (GAUL 1953b). Es ist nun interessant festzustellen, daß der über 7 hinausgehende Bindungswert mit der Häufigkeit der Brücken korrespondiert. Es wurden durchschnittlich 0,52 Brücken in den frühen bis mittleren A_I gezählt und 7,40 Bindungen bei der gleichen Pflanze ermittelt. Die Brücken haben ihre Ursache vermutlich nicht vorwiegend in Inversionspaarung, sondern im Chromatidbruch bzw. Chromosomenbruch mit anschließender Rekombination zwischen nicht homologen Univalenten (GAUL 1953b, Tabelle 1). Die über 7 hinausgehenden Bivalente sind also vielleicht keine echten Bivalente, sondern „Pseudobivalente“. Dies weist auf die Möglichkeit hin, daß auch die bei Mono-Hapliden beobachtete Paarung vorwiegend durch Chromosomenbrüche mit anschließender nichthomologer Chromosomenvereinigung erklärt werden kann, wie dieses auch von LEVAN (1942) für haploiden Roggen diskutiert wird. SMITH L. (1946) fand bei haploidem *T. monococcum* 3,2% Zellen mit Bivalenten in M_I und 2,9% Zellen mit Brücken in Telophase I (8 der 9 Brücken hatten ein Fragment).

Es erscheint weiterhin vorerst vernünftiger, die bei *Secale* $\times$ *A. intermedium* gefundene Multivalentbildung zumindest vorwiegend als Beziehungen von $I_1 I_2$ zu X_m zu deuten, als sie durch Beziehungen zum Roggengenom zu erklären. Sicher kann hierüber natürlich nichts gesagt werden, aber die weit vorangetriebenen genomanalytischen Untersuchungen in der nahe verwandten Gattung *Aegilops* zeigen, daß hier alle identifizierten Genome (rund 20) zumindest schwache Beziehungen zueinander haben (LILIENFELD 1951). In Abwesenheit der homologen

Partner werden hier stets einige Bindungen gebildet, und oft ist ihre Zahl gar nicht gering. Es ist also nicht überraschend, wenn streuungsmäßig bis zu 4_{III} gefunden wurden (durchschnittlich maximal 1,7). Vorerst ist die Annahme nicht unberechtigt, daß mindestens 3—4 Chromosomen von X_m schwache Beziehungen zu I_1I_2 haben, und nach dem Ergebnis der errechneten p-Werte (Teil CI und GAUL 1953a) besteht vielleicht eine gewisse Möglichkeit, daß sich diese Zahl noch um 1—2 erhöht. Die Annahme der Beziehungen von X_m zu I_1I_2 wird außerdem dadurch unterstützt, daß bei reinem *intermedium*, wenn auch ganz vereinzelt, Hexavalente gefunden wurden. Schließlich muß noch auf die Möglichkeit hingewiesen werden, daß die Multivalente bei *Secale* $\times$ *A. intermedium* auch zum Teil unecht sein können und auf Chromosomenbrüchen mit anschließender Rekombination beruhen (vgl. GAUL 1953b, Phot. 7).

Die Annahme der starken Verwandtschaft der 2 *Agropyrum*-genome wird durch mehrere *autosyndetische Befunde der Literatur* gestützt. Es handelt sich zunächst um Haplo-Diploide, nämlich (1) um *Triticum-A. intermedium*-Amphidiploid-Rückkreuzungen mit *Triticum* und (2) um F_2 -Pflanzen, die aus Rückkreuzung einer unreduzierten F_1 -Eizelle mit *Triticum*-Pollen entstanden sind.

Beide haben die gleiche Genomformel $\frac{Triticum\ I_1I_2X_m}{Triticum}$. Jede Paarung, die in

diesen Haplo-Diploiden über die innerhalb von *Triticum* gebildeten Bivalente (14 oder 21) hinausgeht, muß auf Autosyndese von *intermedium* zurückgehen. KHZINJAK (1936b, 1938) stellte hier bis zu 7 zusätzliche Bivalente fest, THOMPSON und GRAFIUS (1950) bis zu 5 und OHLENDORF (1952) bis zu 7; die letzte Autorin fand eine Pflanze mit durchschnittlich $1,5_{II}$ und eine zweite mit durchschnittlich $4,1$. Aus zweierlei Gründen ist aber eine *durchschnittliche* Mehrpaarung von 7_{II} nicht zu erwarten: (1) Es besteht kein Grund zu der Annahme, daß sich die Asynapsis der Originalhybriden hier nicht auswirken soll. Auch die entsprechenden Amphidiploiden zeigen weitgehenden Paarungsausfall (POPE 1950, vgl. GAUL 1953a, Tabelle 1). (2) Bei den *Triticinae* sind bei Chromosomenzahlen über $2n = 42$ Unregelmäßigkeiten der Paarung, die zur Univalentbildung führen, eine allgemeine Erscheinung (AASE 1930, LEWITZKY und BENETZKAJA 1932, KATTERMANN 1934, 1935, LINDSCHAU und OEHLER 1935, v. BERG und OEHLER 1938, CHIN 1946 u. a.). Das gleiche trifft oft auch für neue Amphidiploide zu (KOSTOFF und ARUTIUNOVA 1937, KONDO 1941, SEARS 1941, McFADDEN und SEARS 1947, BELL und SACHS 1953) sowie für Haplo-Diploide oder komplexe Tripelbastarde mit prinzipiell ähnlichen Verhältnissen wie die sesquidiploiden *Triticum* $\times$ *A. intermedium*-Hybriden (KATTERMANN 1934, 1935, MÜNTZING 1935a, LEIN 1943/44, McFADDEN und SEARS 1947).

Maßgebend für die Beantwortung der Frage nach der maximalen Paarungsfähigkeit der Haplo-Diploiden muß deshalb allein die maximale Streuungspaarung sein. Diese hat als ausgesprochener Minimumwert der potentiellen Paarungsfähigkeit zu gelten. Eine durchschnittliche Realisierung dieser potentiellen Paarung würde der Erwartung widersprechen und kann nur in sehr seltenen Ausnahmefällen vorkommen.

Weiterhin liefern die Kreuzungen von FAVORSKY (1936, 1937c) für die Annahme des autopoloiden Charakters zweier *intermedium*-Genome eine starke Stütze. Dieser Autor fand bei *Aegilops speltoides* $\times$ *A. intermedium* 7_{II} . Ferner wurde

intermedium an den allopoloiden *Aegilops*-Arten *variabilis*, *triaristata*, *crassa*, *turcomanica* (*juvenalis*) zytologisch getestet. Diese Kreuzungen hatten sogar bis zu 14_{II} , bis auf *A. intermedium* $\times$ *Ae. triaristata* (7_{II}), und die *turcomanica*-Hybride hatte bis zu 21_{II} . Wenn man bedenkt, daß diese *Aegilops*-Arten so unterschiedliche Genome wie das S-, C^u-, S^v-, M^t-, D-, J-Genom enthalten (SEARS 1948, KIHARA 1949, LILIENFELD 1951) sowie noch weitere unbekannte, wenn man sich weiterhin die anderen Genome vergegenwärtigt, an denen *A. intermedium* getestet worden ist, Sec, AB und ABD, so bleibt vernünftigerweise für die überall beobachtete, relativ hohe Paarung von 7 oder mehr Bivalenten nur die Erklärung umfangreicher Autosyndese von *intermedium* (I_1 und I_2). Wird Allosyndese unterstellt, so müßte *intermedium* 2—3mal so viel Genome besitzen wie es tatsächlich hat. Außerdem weisen diese Kreuzungen von FAVORSKY auf starke Beziehungen des Xm-Genoms von *A. intermedium* zu *Aegilops* hin. Dies steht in Übereinstimmung mit dem eigenen Ergebnis, das später vorgetragen werden soll.

Die Frage, ob I_1I_2 ursprünglich voll homolog waren, d. h., ob die Tetraploide, aus der dann später die Hexaploide entstand, ursprünglich autoploid war, kann nicht mit Sicherheit entschieden werden. MÜNTZING (1936, 1937, MÜNTZING und PRAKKE 1940) betont die evolutionäre Rolle der Autoploidie, während CLAUSEN, KECK, und HIESEY (1945) und besonders STEBBINS (1947) ihre Bedeutung kürzlich in kritischen Übersichten erheblich beschneiden. $6n$ *intermedium* hat, wie schon hervorgehoben, vermutlich 7 oder 6 Chromosomenpaare, die jeweils auf beiden Armen homologe Segmente besitzen. Die autoploide Entstehung des $4n$ *intermedium* hat deshalb und aus weiteren Gründen (s. unten) gegenüber einer allopoliden eine größere Wahrscheinlichkeit. Die Differenzierung von II in I_1I_2 könnte als Regulation des Paarungsmechanismus aufgefaßt werden, der die Multivalentbildung verhindert und dadurch eine bessere Fertilität bedingt (DARLINGTON 1937, UPCOTT 1939, LINNERT 1948 u. a.).

Im Vergleich zu den nahe verwandten Gattungen spielt bei *Agropyrum* die Polyploidie die größte Rolle. Hier werden die höchsten Chromosomenzahlen der *Triticinae* erreicht, die bis zu $2n = 70$ hinaufgehen. Zweifellos steht dies auch im Zusammenhang damit, daß hier die perennierenden Spezies vorherrschend und am häufigsten vertreten sind (MÜNTZING 1936, 1937, STEBBINS 1938, 1947).

Die Vermutung, daß es sich bei dem ursprünglichen $4n$ *intermedium* um eine Autoploide handelt, wird weiterhin dadurch gestützt, daß in der Phylogenie des Genus *Agropyrum* offenbar die Autoploidie einen größeren Einfluß hat.

Während bei *Triticum* und *Aegilops* nur Allopoloide bekannt sind, gibt es von *Agropyrum* *spicatum*, *inermis*, *cristatum*, *sibiricum*, *griffithsii* $2n$ und $4n$ Formen, die sich morphologisch nicht oder nicht wesentlich unterscheiden, es sei denn durch allgemeine Polyploidieeigenschaften wie Wüchsigkeit, stärkere Blattneubildung usw. (PETO 1929, 1930, AVDULOV 1931, SIMONET 1935a, VAKAR 1937a, NIELSEN und HUMPHREY 1937, ARARATJAN 1938, MYERS und HILL 1940a, b, HARTUNG 1946, v. BERG unveröffentlichte Angabe bei v. ROSENSTIEL 1949, RUDOLF-LAURITZEN unveröffentlichte Angabe¹). Von *cristatum* ist außer der $2n$ - und der $4n$ -sogar die $6n$ -Form bekannt (ARARATJAN 1938). FAVORSKY (1935) beobachtete bei *Secale cereale* $\times$ $4n$ *cristatum* 6— 7_{II} , die auf Autosyndese von *cristatum* zurückgeführt werden müssen, da MYERS und HILL später (1940a) bei 5 untersuchten $4n$ *cristatum*-Pflanzen durchschnittlich 3,4— $4,2_{IV}$ je Zelle fanden. $6n$ *cristatum* ist also vermutlich auto-allopoloid wie *intermedium* und stellt möglicherweise einen interessanten Parallellfall dar. Es unterscheidet sich jedoch von *intermedium* dadurch, daß die $2n$ Form bekannt ist und daß die Quadrivalentenfrequenz vielleicht größer ist (aber die Meiosis von $4n$ *intermedium* ist bisher zytologisch noch

nicht untersucht). Beide Tatsachen, sowie das offenbar seltene Vorkommen von *6n cristatum* können als eine phylogenetisch spätere polyploide Entwicklung von *cristatum* gegenüber *intermedium* gedeutet werden.

Weiterhin sind von *Agropyrum Smithii* 2n-, 4n- und 8n- Formen bekannt (PETO 1930, NIELSEN und HUMPHREY 1937, HARTUNG 1946), und es konnten zwischen dem 4n- und 8n-Typ keine morphologischen Unterschiede festgestellt werden (HARTUNG 1946), wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß diese *Agropyrum*-Art besonders variabel ist. Von *Agropyrum elongatum* sind 2n-, 8n- und 10n-Formen bekannt (PETO 1930, VAKAR 1935a, b, 1936, 1937a, b, SIMONET 1935a, b, SAPEHIN 1935, KHIZNJAK 1936a, POPOVA 1939, HARTUNG 1946, RUDOLF-LAURITZEN unveröffentlichte Angabe¹). SIMONET fand zwischen 2n- und 10n-Formen schwache Unterschiede (10n: weniger Blüten je Ährchen, behaarte Ährchenachse, größere Staubgefäße, Hüllspelzen viereckig abgestumpft und schwach genervt). Er schlägt deshalb für die Dekaploide den Namen *A. caespitosum* KOCH vor, da das diploide *A. elongatum* (HOST) P. B. völlig mit der ursprünglichen Beschreibung von HOST (1802) übereinstimmt. Das 10n *A. elongatum* des Erwin-Baur-Institutes hat aber zum großen Teil 6—14 Blüten je Ährchen, wie dies SIMONET für die 2n-Form fand (10n: 4—8) und die Hüllspelzen sind veränderlich. Es überwiegen hier zwar viereckig abgestumpfte, jedoch kommen auch schräg gestutzte und annähernd rundlich abgestumpfte vor. Hierdurch wird aufs neue die große Variabilität bei den *Agropyrum*-Arten demonstriert und die Schwierigkeit gezeigt, vor die sich die Systematik bei dieser Gattung gestellt sieht, in der die Fremdbestäubung vorherrscht. Bei 10n *elongatum* wurde in der Meiosis starke Multivalentbildung festgestellt, die bis zu VIII-Verbindungen heraufging (PETO 1936a, GAUL, unveröffentlichte Angabe) und man darf auch aus den *Triticum* × *A. elongatum*-Kreuzungen folgern, daß mindestens 4 Genome mehr oder weniger homolog sind (VAKAR 1935a, b, KHIZNJAK 1936a, POPOVA 1939), wahrscheinlich aber liegen die autopoliden Verhältnisse noch komplizierter (PETO 1936a, GAUL, unveröffentlichte Angabe).

Weiterhin gibt es von *Agropyrum repens* und *juncum* 4n- und 6n-Formen (STOLZE 1925, MOWERY 1929, PETO 1929, 1930, AVDULOV 1931, SIMONET 1934, 1935a, b, SIMONET und GUINOCHE 1938, VAKAR 1937a, PARDI 1937, NIELSEN und HUMPHREY 1937, ÖSTERGREN 1940a, b, v. BERG unveröffentlichte Angabe bei v. ROSENSTIEL 1949). Beide Arten haben in der Meiosis Quadrivalente und nicht unbeträchtliche Paarung bei Kreuzung untereinander (ÖSTERGREN 1940b) sowie in Kreuzungen mit tetraploidem Weizen (ÖSTERGREN 1940a, KOSTOFF 1941b). Schließlich kommen, wie schon oben erwähnt, bei *A. intermedium*, Subsp. *glaucum* und Subsp. *trichophorum* tetraploide Typen vor (KHIZNJAK 1936a, VAKAR 1937a) und hexaploide (PETO 1930, 1936a, VAKAR 1936, 1937a, b, ARARATJAN 1938, HARTUNG 1946, s. auch Tabelle 1). Nach den mir zugänglichen Literaturquellen sind leider keine morphologischen Vergleiche beider Typen bekanntgeworden, es sei denn eine Vermutung, die CICIN (1935) äußert.

An der starken partiellen Homologie zweier Genome von *intermedium* kann kaum ein Zweifel bestehen, und die Annahme des autopoliden Ursprunges der Tetraploiden ist nicht unberechtigt. So gehört das 6n *intermedium*, allgemein ausgedrückt, zu dem AAB-Typ der Polyploiden. Es kann als Diplo-Tetraploide (entsprechend WARMKE und BLAKESLEE 1939) bezeichnet werden und liefert ein weiteres Beispiel für solche Typen in der Polyploidieliteratur. KOSTOFF (1939b) folgert aus seinen Kreuzungsergebnissen, daß *Helianthus tuberosus* ($2n = 102$) die Genomformel At_1At_2Bt hat und bezeichnet es als Auto-Allopolyploide. Einen interessanten Parallellfall zu *A. intermedium* stellt *Phleum pratense* ($2n = 42$) dar, das MÜNTZING und PRAKKEN (1940) als A_1A_2N beschreiben. Diese genomatische Konstitution kann als nahezu sicher gelten und ATWOOD (1947) sowie STEBBINS (1947) haben kürzlich in ihren Literaturüberblicken diesen Fall eingehend beschrieben. Am eindrucksvollsten ist die Tatsache, daß bei den Hapliden 7_{II} (LEVAN 1941) oder sogar gelegentlich zusätzliche Trivalente (NORDENSKIÖLD

¹ Frau Dr. RUDOLF-LAURITZEN bin ich für die Überlassung von Chromosomenzahlen folgender Arten des Sortimentes des Erwin-Baur-Institutes zu Dank verbunden: *A. cristatum* $2n = 14$, *sibiricum* var. *desertorum* $2n = 28$, *elongatum* $2n = 70$.

1941) gebildet werden. Trotzdem fanden MÜNTZING (1935b) und NORDENSKIÖLD (1937) beim diploiden *Phleum pratense* keine Multivalente. Auch später stellten MÜNTZING und PRAKKEN (1940) keine Quadrivalentbildung fest und darüber hinaus fanden sie bei triploiden Pflanzen ($2n = 63$) eine unerwartet geringe Trivalenthäufigkeit. Sie folgern eine genotypisch kontrollierte Tendenz zur Bivalentbildung. MYERS (1941) beobachtete zur gleichen Zeit bei einem diploiden ♂ sterilen Klon in gut 60% der PMZ in der Diakinese 1—3 (4)_{IV} und später (1944) bei 7 Pflanzen eine Gesamtvariation von 0—7_{IV} und durchschnittlich 2,9—4,9_{IV}, außerdem durchschnittlich 0—0,9_{VI}. Das Auftreten der Hexavalenten bei den Diploiden, ebenso wie das der Trivalente bei den Haploiden, zeigt, daß zwischen A_1A_2 und N homologe Beziehungen bestehen. So erinnert dieser Fall in allem an die bei *A. intermedium* gefundenen Verhältnisse, einschließlich der geringen Quadrivalentbildung, die dort bei verschiedenen Typen gefunden wurde. — Einige andere Auto-Allopoloide sind von STEBBINS (1947) zusammengefaßt.

Daß Autoploide nur wenige oder keine Multivalente zu bilden brauchen, ist seit langem bekannt. Eines der eindrucksvollsten Beispiele wurde durch LILIENTHAL (1936) für *Fragaria elatior* ($2n = 42$) geliefert. Auf Grund verschiedener Kreuzungsergebnisse konnte dieser Autor die Homologie der 3 *elatior*-Genome aufzeigen, trotzdem wurden bei der Autoploiden keine Multivalente gefunden. Weitere Fälle sind zusammengestellt bei MÜNTZING (1936, 1937) und bei MÜNTZING und PRAKKEN (1940).

Die geringe Quadrivalentbildung bei *intermedium* stellt also keinen Ausnahmefall dar. Die Unterschiede von Pflanze zu Pflanze sind zwar nicht unbeträchtlich (Tabelle 4), aber doch relativ gering. Es ist durchaus möglich, daß es Typen gibt, die eine wesentlich größere Multivalentbildung zeigen. UPCOTT (1939) nimmt an, daß bei vollständig Autotetraploiden die Multivalentbildung durch eine verringerte Chiasmenfrequenz verhindert wird. Aber BEASLEY und BROWN (1942) colchizinierten asynaptisches, diploides *Gossypium* und fanden bei den Tetraploiden einige Tri- und Quadrivalente, obgleich nur 56% der Chromosomen gepaart waren, die normale Chiasmenfrequenz also erheblich reduziert war. Das Problem der regelmäßigen Bivalentbildung bei natürlichen Autoploiden ist trotz vieler wertvoller Beiträge nach wie vor im wesentlichen ungelöst. Dagegen kann kaum ein Zweifel bestehen, daß der Umfang der Multivalentbildung und ihre gänzliche Verhinderung genetisch kontrolliert werden.

So fand CHIN (1943) bei colchiziniertem Roggen nur durchschnittlich 1,05 Multivalente je Zelle, MÜNTZING und PRAKKEN (1941) in einer tetraploiden Chimäre 2,3. Neuerdings fand MÜNTZING (1951) bei seinen colchizinierten 4n-Roggen bis zu durchschnittlich 4,29 Multivalente. FREISLEBEN (1942) und ROSENDAHL (1943/44) beobachteten bei hitzeinduzierten 4n-Gersten, die aus Sortenkreuzungen hervorgegangen waren, eine Variation von durchschnittlich 1,90—3,50 Multivalente; PETO (1936b) fand, ebenfalls nach Einwirkung von Hitzeschock, bei einer tetraploiden Ährenhälfte 3,58_{IV}. ELLIOT und LOVE (1948) stellten bei 6 Klonen von natürlichem *Bromus inermis* ($2n = 56$) durchschnittlich 1,0—3,34_{IV} + III fest. MYERS und HILL (1940a, b) fanden bei *Agropyrum cristatum* und *Arrhenatherum elatius* Unterschiede der Quadrivalentbildung von Pflanze zu Pflanze, MYERS (1941) konstatierte das gleiche für 6n *Phleum pratense* und induziertes 4n-*Lolium perenne*. Derselbe Autor (1943, 1948) beobachtete bei dem autotetraploiden *Dactylis glomerata* in Inzuchtlinien eine Aufspaltung der Quadrivalentbildung von durchschnittlich 3,4—5,3 je Zelle, nachdem schon vorher wiederholt Unterschiede zwischen Populationspflanzen festgestellt worden waren (MYERS und HILL 1942, MYERS 1943; s. auch MÜNTZING 1933, 1937).

Wenn in diesen Beispielen auch oft die Umwelt variierend eingreifen mag, so ist eine genetische Streuung der Multivalentbildung offensichtlich. Für eine Erklärung der Verhinderung von Quadrivalentformationen bei *intermedium* kommt in erster Linie, wie schon erwähnt, die Differenzierung der Genome in I_1 und I_2 in Frage. Diese bewirkt Vorzugspaarung (LILIENFELD 1951) von I_1 mit I_1 und I_2 mit I_2 , da die Chromosomen in „pairing blocks“ operieren (DARLINGTON 1937). Ob aber hiermit eine ausreichende Erklärung für die beobachtete durchweg geringe Multivalentbildung gegeben ist, die zudem noch deutliche Unterschiede zeigt, erscheint fraglich, die Annahme einer zusätzlichen genetisch kontrollierten Unterdrückung wahrscheinlicher.

2. Beziehungen des dritten *A. intermedium*-Genoms (X_m) zu den *Triticum*-Genomen (D und AB), *Aegilops mutica*-Hypothese.

Bei *T. aestivum* $\times$ *A. intermedium* konnten aus dem Parabel-Verteilungsmechanismus der Chiasmen etwa 40 paarungsfähige Chromosomen je Zelle im voraus errechnet werden (Teil C, I und GAUL 1953a). Beobachtet wurden maximal durchschnittlich 30,46 gebundene Chromosomen (Tabelle 11) und streuungsmäßig bis zu 37. Mindestens 14 Chromosomen in dieser Kombination $\frac{ABD}{I_1 I_2 X_m}$ werden sehr wahrscheinlich autosyndetisch von *intermedium* gebunden ($I_1 I_2$). Es entsteht deshalb die Frage, wie sich die restlichen rund 25 Chromosomen binden. Hierfür gibt es drei Möglichkeiten, (1) homologe Beziehungen von X_m zu ABD, (2) Autosyndese innerhalb von *Triticum*, (3) homologe Beziehungen von $I_1 I_2$ zu X_m und ABD. Die letzte Möglichkeit scheidet von vornherein als wesentliches Moment aus. Die Multivalentbildung ist hierfür, auch bei den Pflanzen mit der höchsten beobachteten Paarung, zu gering. So wurden z. B. bei einer Pflanze (K 1/35F, Tabelle 11) außer 7_{II} ($I_1 I_2$) noch weitere $4,00_{II} + 2,40_{III} + 0,20_{IV} + 0,02_V$ gezählt, also rund 7 zusätzliche Bindungen festgestellt, die ohne Beteiligung von $I_1 I_2$, allein im X_m ABD-Komplex entstehen.

Die Ergebnisse der Untersuchungen über die Beziehungen von A, B und D zueinander wurden eingehend dargestellt (GAUL 1953a). Obwohl über die Anzahl der paarungsfähigen Chromosomen keine genauen Angaben gemacht werden können, kann doch mit ziemlicher Gewißheit angenommen werden, daß sie bei den *T. aestivum* $\times$ *A. intermedium*-Bastarden nur untergeordnete Bedeutung haben, und keinesfalls können sie die gesuchten restlichen 25 Chromosomen allein erklären (außerdem liefert ABD insgesamt nur 21).

Es bleibt also als Hauptgrund nur Beziehungen von X_m zu *Triticum*. Diese können zu A, B oder D oder zu mehreren von diesen Genomen vorhanden sein. Bei $AB \times I_1 I_2 X_m$ wurden etwa 32 paarungsfähige Chromosomen errechnet, aber bei höchster durchschnittlicher Paarung rund 14 gebundene Chromosomen weniger beobachtet als bei höchster durchschnittlicher Paarung von $ABD \times I_1 I_2 X_m$, obwohl nahezu 30 genetisch verschiedene Pflanzen untersucht wurden. Wenn die (schon mehrfach betonte) Hypothese Gültigkeit hat (vgl. GAUL 1953a), daß die Realisierung der potentiellen Paarungsmöglichkeit um so seltener eintritt, je schwächer oder komplizierter die homologen Beziehungen sind (d. h. die Erhöhung der Chiasmenfrequenz wird schwieriger), so können aus den tatsächlichen

Paarungsbeobachtungen stärkere Beziehungen von Xm zu D als von Xm zu AB gefolgert werden, obwohl diese letzteren auf alle Fälle auch vorhanden sein müssen (32 paarungsfähige Chromosomen). Dieser Wahrscheinlichkeitsschluß hat zunächst begrenzte Bedeutung, da nur etwa 30 bzw. 40 verschiedene Pflanzen untersucht wurden. Er gewinnt jedoch bereits an Bedeutung, wenn man solche Bastarde in der 4n- und 6n- Weizenkombination betrachtet, die den gleichen *intermedium*-Elter haben. Es wurde schon dargelegt (Teil B, III, 4), daß *A. intermedium* 33/1 offenbar einen Einfluß auf hohe F₁-Paarung bei den *aestivum*-Bastarden hat, jedenfalls haben alle 8 (von 40) Hybriden entweder die stärkste überhaupt beobachtete Paarung oder doch zumindest noch etwa durchschnittlich 17 gebundene Chromosomen. 9 untersuchte F₁-Pflanzen der 4n- Weizenkreuzung vom gleichen *intermedium*-Elter hatten dagegen durchschnittlich nur von 12,5 bis 17,3 gebundene Chromosomen. In bezug auf die in beiden Kombinationen höchsten Durchschnittswerte wurden also bei $ABD \times A. intermedium$ 33/1 13,16 gebundene Chromosomen mehr beobachtet als bei $AB \times A. intermedium$ 33/1. Unterstellen wir deshalb zunächst die Annahme von stärkerer Homologie zwischen Xm und D und von schwächerer zwischen Xm und AB und prüfen ihre Konsequenzen.

Wird der diploide Träger des Xm-Genoms gesucht, auf den die Entstehung des 6n *A. intermedium* (aus I₁I₁ I₂I₂) zurückgeht, so müßte dieser folglich dem D-Genom mehr oder weniger homolog sein. Das D-Genom kommt aber aus der Gattung *Aegilops*. Vor einigen Jahren konnte überzeugend gezeigt werden, daß das diploide *Aegilops squarrosa* ein dem D-Genom des Weizens homologes Genom besitzt und wahrscheinlich direkt zur Entstehung des 6n Weizens beigetragen hat (McFADDEN und SEARS 1944, 1945, 1946, 1947, SEARS 1948, KIHARA 1944, 1947, 1949, KIHARA und LILIENFELD 1949, LILIENFELD 1951). *Ae. squarrosa* unterscheidet sich aber morphologisch stark von *A. intermedium*. Auf der Suche in der Literatur nach diploiden *Aegilops*-Arten, die homologe Beziehungen zu *Ae. squarrosa*, aber morphologische Merkmalsgemeinschaften mit *A. intermedium* haben, stieß ich auf *Ae. mutica*.

Die beiden Monographien über *Aegilops* von ZHUKOVSKY (1928) und EIG (1929) entstanden unabhängig voneinander. Beide Systematiker räumen *Ae. mutica* eine absolute Sonderstellung innerhalb der Gattung ein. EIG geht sogar soweit, daß er den Genus in 2 Untergattungen einteilt, Subgenus *Eu-Aegilops* und Subgenus *Amblyopyrum*. Zu *Eu-Aegilops* gehören alle *Aegilops*-Arten bis auf *Ae. mutica*, das als einzige Art dem Subgenus *Amblyopyrum* eingeordnet wird. Beide Autoren stellen fest, daß es hinsichtlich einiger Merkmale der Ährenform *Agropyrum* näher steht als *Aegilops*, weshalb es gelegentlich auch von älteren Systematikern in die Gattung *Triticum* bzw. *Agropyrum* gestellt wurde (s. Literaturüberblick bei EIG sowie Synonyme bei ZHUKOVSKY). Sowohl ZHUKOVSKY als auch EIG betonen wiederholt die Bindegliedstellung von *Ae. mutica* zwischen der Gattung *Aegilops* und *Agropyrum*. ZHUKOVSKY (S. 547) schreibt über *Aegilops mutica*: „In jedem Fall haben wir bei dieser Art einen genetischen Zusammenhang zwischen der Gattung *Aegilops* und der Gattung *Agropyrum* (speziell mit der Art *Agr. trichophorum*).“ Auch KIHARA (1940), der selber mit *mutica* Kreuzungen und zytologische Untersuchungen durchgeführt hat, weist auf die *Agropyrum* nahestehende Ährenform hin (S. 52). ZHUKOVSKY vermutet schließlich

sogar, daß *Agropyrum trichophorum* phylogenetisch an der Artbildung von *Ae. mutica* beteiligt war, da beide im Zentrum ihres Areals in Kleinasien an gemeinsamen Standorten vorkommen (S. 604). *Ae. mutica* ist aber diploid und *A. trichophorum* hexaploid. Dies konnte ZHUKOVSKY damals nicht wissen, und der umgekehrte Vorgang, eine Beteiligung von *mutica* an der Entstehung von *trichophorum*, ist deshalb wahrscheinlicher. Die Abbildungen von ERG (Tafel II) und ZHUKOVSKY (S. 544/47) überzeugen von beträchtlicher Ähnlichkeit zwischen *mutica* und *intermedium*. „After all, *Ae. mutica* differs from *Agropyrum trichophorum* but by the notchedness of the empty glume and by its annual habit life“ (ZHUKOVSKY S. 604). Im übrigen scheint das in den Herbarien und Sortimenten seltene *mutica* variabel zu sein. ERG unterscheidet *var. typica*, *var. loliacea* und ZHUKOVSKY Ssp. *loliacea*, Ssp. *tripsacoides*.

Tabelle 13. *Aegilops mutica*-Hypothese (Paarungsergebnisse nach KIHARA und LILIENFELD 1935b).

Kombination	Mode der Bindung je PMZ	Variation der Bindung je PMZ	Variation der Ring-II je PMZ	Mode der Ring-II je PMZ	Multivalente je PMZ
<i>Ae. comosa</i> (M) × <i>squarrosa</i> (D)	7	3—7	0—7	3—4	III
<i>Ae. comosa</i> × <i>mutica</i> (Mt). . . .	7	3—7	0—5	3—4	III
<i>Triticum durum</i> (AB) × <i>Ae. mutica</i>	6—7	2—8	0—3	1—2	0—5III, Mode I, IV

M — D — Mt — Xm = verwandte Genome, ferner Beziehungen zu AB.

Interessant ist nun, daß die morphologische Ähnlichkeit mit stärkeren Beziehungen vom Xm-Genom zum Mt-Genom (= *Ae. mutica*, KIHARA 1949) parallel zu gehen scheint. Beide Genome haben nämlich offensichtlich Beziehungen zum D-Genom. Leider ist *mutica*, soweit mir bekannt, erst dreimal als Kreuzungselter benutzt und noch nicht direkt mit *Ae. squarrosa* gekreuzt worden. Sowohl das D- als auch das Mt-Genom bildete jedoch mit *Ae. comosa* (M) bis zu 7 bzw. bis zu 5 Ring-II (Tabelle 13). KIHARA (1940, S. 61) weist deshalb auf die enge Verwandtschaft von M-Mt-D hin, und LILIENFELD (1951, S. 116) ordnet in seinem Diagramm der *Triticum-Aegilops*-Verwandtschaften *Ae. mutica* direkt unter *Ae. squarrosa* ein, dem dann, etwas abgesetzt, weitere Mitglieder der „D family“ folgen.

Tabelle 13 zeigt nun weiterhin, daß auch unsere letzte Forderung (s. oben S. 537) erfüllt wird, das Mt-Genom hat beträchtliche Beziehungen zu AB. Scheinbar sind komplexe Homologien zu den beiden Emmer-Genomen vorhanden, was durch die hohe Multivalentbildung angezeigt wird. Es sieht so aus, als ob die Beziehungen von Mt nur zu einem Genom (A oder B) nicht so stark wie die zu D sind. *Ae. mutica* erfüllt also alle Bedingungen, die für den gesuchten diploiden Träger des Xm-Genoms aus den zytologischen Beobachtungen abgeleitet wurden, (1) starke Beziehungen zum D-Genom, (2) etwas schwächere zu AB und außerdem noch (3) morphologische Merkmalsgemeinschaften mit *A. intermedium*. Nichts steht der Annahme entgegen, in *Ae. mutica* oder einer verwandten Art den Träger des gesuchten Xm-Genoms zu sehen. Diese Hypothese wird noch unterstützt durch die schon erwähnten Kreuzungen von *intermedium* mit einer Reihe von *Aegilops*-Arten (Teil C, II, 1) von FAVORSKY (1936, 1937c), der hier durchweg 7—21_{II} feststellte.

Die Phylogenie von *A. intermedium* könnte man sich deshalb folgendermaßen vorstellen. Aus einer diploiden *Agropyrum*art mit den Genomen II II entstand durch somatische Chromosomenverdopplung eine Tetraploide II II (oder nach Bastardierung mit nahe verwandter Form aus unreduzierten Gameten). Bei ständiger Differenzierung der Genome in $I_1I_1I_2I_2$ ergab die Kreuzung dieses $4n$ *intermedium* mit *Aegilops mutica* oder einer dieser Art verwandten Form dann nach Genomverdoppelung das auto-allopoloide *A. intermedium* $I_1I_1I_2I_2XmXm$.

Abb. 20 zeigt als Schema die minimal paarungsfähigen Chromosomen zwischen den verschiedenen Genomen, soweit diese bisher bekannt sind. Am stärksten werden die Beziehungen zwischen I_1 - I_2 und Xm - D angenommen, es folgt dann Xm - AB . Die verwandtschaftlich zentrale Stellung des Xm -Genoms wird deutlich. Es hat zu allen Genomen nicht unbeträchtliche Beziehungen. Die erstaunlich große Anzahl paarungsfähiger Chromosomen bei den *aestivum*-Bastarden (etwa 40) wird hier in Anbetracht der partiellen Beziehungen, die vermutlich alle Genome (oder fast alle) mit allen Genomen besitzen, demonstriert. Unbekannt bleibt leider die verwandtschaftliche Stellung von I_1I_2 gegenüber AB . Aber es muß betont werden, daß kein Grund zu der Annahme stärkerer Verwandtschaft vorhanden ist; die beobachtete Multivalentbildung kann ohne eine solche Annahme hinreichend erklärt werden.

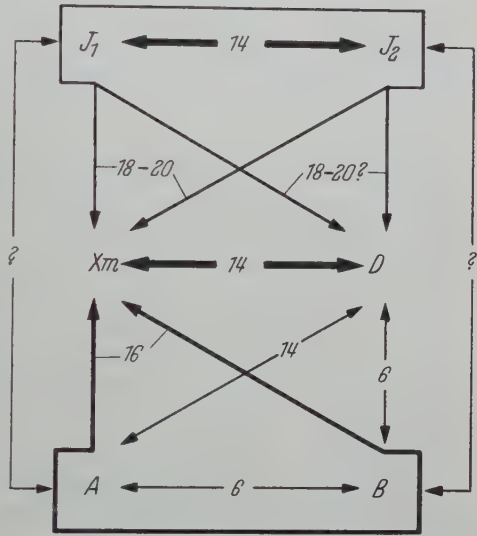
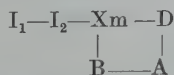


Abb. 20. Minimale Anzahl paarungsfähiger Chromosomen zwischen den Genomen von *Triticum* und *A. intermedium*. Die Beziehung Xm - AB basiert auf KIHARA und LILIENFELD (1935), die Beziehung A - D auf GAUL (1953a, Tabelle 2) und die Beziehung A - B und D - B auf KIHARA (1929) und KIHARA und NISHIYAMA (1930).

Es ist nicht möglich, genaue Angaben darüber zu unterbreiten, welche Chromosomen bzw. Chromosomenarme (Multivalentbildung) sich mit welchen am häufigsten paaren. Aber für das Gros der Chromosomen sind doch, in bezug auf die beteiligten Genome, hierüber Aussagen möglich. So werden wahrscheinlich meist innerhalb I_1I_2 und XmD je 14 Chromosomen gebunden. Die restlichen etwa 12 Chromosomen von AB können sich irgendwie als Multivalente Xm und D anlagern und auch untereinander paaren. Bei den zahlreichen vorhandenen homologen Segmenten gibt es viele Möglichkeiten für die Multivalentbildung. Quadri-valente werden wohl oft im I_1I_2 - XmD -Komplex entstehen. Hexavalente können z. B. folgendermaßen gebildet werden:



Eine Reihe weiterer Möglichkeiten für die Multivalentbildung bestehen außerdem, welche von ihnen am häufigsten realisiert werden, kann nur spekuliert werden.

Die dargestellten experimentellen Ergebnisse sowie die aus ihnen gezogenen Folgerungen sind dazu in der Lage, alle in der Literatur bestehenden Widersprüche über den Paarungsumfang und die genomatischen Verhältnisse der *Triticum* × *A. intermedium*-Hybriden (s. auch Tabelle 1) sinnvoll zu erklären. Die in dieser Arbeit dargelegte Anschauung beruht auf (1) der beobachteten Asynapsis und (2) der gefolgerten Verwandtschaft von I_1 und I_2 . Als nahezu sicher können ferner (3) starke Beziehungen von X_m zu D gelten und mit Wahrscheinlichkeit (4) schwächere zu AB. Die *Aegilops mutica*-Hypothese bedarf natürlich der experimentellen Überprüfung. Jedenfalls hat die Anschauung alles für sich, daß die Verwandtschaft von *A. intermedium* mit *Triticum* keine direkte ist, sondern über den Genus *Aegilops* besteht, bzw., daß sie auf gemeinsame Ausgangsgenome beider Gattungen zurückgeht.

Autosyndese zweier *intermedium*-Genome wurde bereits von KHIZNJAK (1936b, 1938) angenommen (Tabelle 1), nachdem dieser vorher (1936a) als Genomformel für *intermedium* $A_1B_1D_1$ angegeben hatte. VAKAR (1936, 1937a, b, 1938) folgerte aus der Mehrpaarung der 6n-Weizenbastarde gegenüber den 4n-Hybriden, daß *intermedium* das D-Genom besitzt. Aber allein aus der Tatsache, daß *T. monococcum* mit *A. glaucum* kreuzbar sein soll (ohne zytologische Untersuchung der Bastarde) schließt er, um seine 14_{II} zu erklären, außer dem D-Genom auf das A-Genom bei *intermedium* (1937a, S. 94/95) und geht in bezug auf das A-Genom mit KHIZNJAK (1938) parallel. PETO (1936a) hatte bei 4n und 6n Bastarden gleichermaßen 7_{II} beobachtet und folgert daher auf homologe Beziehungen von *intermedium* zum A- oder B-Genom. Alle diese Folgerungen der drei Autoren, die Genomformeln für *A. intermedium* aufstellten, haben gewisse Gültigkeit und sind in der eigenen Anschauung inbegriffen. (1) Asynapsis, (2) Autosyndese und (3) die zentrale Stellung des X_m -Genoms mit den Beziehungen zu allen Weizengenomen werden als die Hemmschuhe angesehen, welche die Genomaufklärung in dieser Spezies so lange erschwerten.

GODLEY (1951) nimmt neuerdings für die Gattung *Agropyrum* eine Bindegliedstellung zwischen den beiden Unterabteilungen der *Hordeae*, Subtribus *Triticinae* und Subtribus *Elyminae*, an, obwohl es systematisch zu dem ersteren gehört. STEBBINS und VALENCIA (1946) und STEBBINS und SINGH (1950) folgern aus ihren Versuchen die Verwandtschaft von *Agropyrum inerme*, *spicatum* und *Parishii* mit *Elymus*. Diese Arten stehen also vermutlich auf dem einen Pol der formenreichen Gattung *Agropyrum* und stellen die Verbindung zu *Elymus* her. Aus den in dieser Arbeit dargestellten Ergebnissen kann gefolgert werden, daß sich der *intermedium*-Komplex auf dem gegenüberliegenden Pol der Gattung befindet und das Bindeglied zu *Aegilops* und damit indirekt zu *Triticum* darstellt.

Zusammenfassung.

1. Unterschiedliche Kreuzungserfolge bei verschiedenen Elternpflanzen der gleichen Kombination von 4n und 6n Weizen × *A. intermedium* werden in erster Linie auf den Einfluß des *Agropyrum*-Elters zurückgeführt.
2. Bei 7 untersuchten Pflanzen von *A. intermedium* ($2n = 42$) wurden in M_1 0—3 Multivalente je Zelle (meist Quadrivalente) festgestellt und 0,66 als höchster Durchschnittswert der sich voneinander unterscheidenden Pflanzen. Sehr vereinzelt kamen Hexavalente vor.

3. Bei 9 Pflanzen von *Secale cereale* $\times$ *A. intermedium* ($2n = 28$) wurden in M_I durchschnittlich 6,9—7,8 Bindungen je Zelle (insgesamt 4—11) festgestellt, davon durchschnittlich 0,7—3,0 Ring-II (0—6). Trivalente hatten eine Häufigkeit von durchschnittlich 0,9—1,7 (0—4), auch Quadrivalente kamen vor.

4. 28 untersuchte Pflanzen von *T. durum* und *dicoccum* $\times$ *A. intermedium* ($2n = 35$) hatten in M_I durchschnittlich 4,2—8,1 Bindungen je Zelle (0—12), davon durchschnittlich 0,3—1,3 Ring-II (0—4). Es kamen 0,4—1,1 $_{III}$ vor (0—4), ferner Quadrivalente.

5. Bei *T. aestivum* $\times$ *A. intermedium* ($2n = 42$) wurden 40 unterschiedliche Pflanzen untersucht. Die Beobachtungen basierten auf mindestens 1×50 PMZ in M_I , bei 13 (perennierenden) Pflanzen jedoch auf $2-4 \times 50$ PMZ. Diese letzteren Auszählungen erfolgten an unterschiedlichen (a) Freiland-Fixierungen verschiedener Jahre (Witterung) und unterschiedlichen Bodeneigenschaften und (b) von Pflanzen, die im Gewächshaus in extremer Trockenkultur gehalten wurden sowie von solchen, die in gut feucht gehaltenen Töpfen die Anthese durchschritten. Alle Trockenklone zeigten gegenüber den entsprechenden (genetisch gleichen) Feuchtklonen eine (zum Teil statistisch gesichert) verminderte Chiasmenfrequenz, die maximal 16,3% betrug. Aber insgesamt hatten die mehrfach untersuchten Pflanzen eine verhältnismäßig große Paarungskonstanz, die Unterschiede zwischen den einzelnen Pflanzen sind in erster Linie genetisch zu erklären. Diese Unterschiede umfassen eine durchschnittliche Streubreite der Bindungen in Form einer Reihe mit allen Übergängen von 1,34—13,86 je Zelle (0—17) sowie eine durchschnittliche Variation der Chiasmenanzahlen von 1,36—20,54 (0—28). Ring-II kamen durchschnittlich 0—3,82 je Zelle vor (0—8), Trivalente durchschnittlich 0—2,70 (0—5), Quadrivalente durchschnittlich 0—0,38 (0—2). Besonders bei Pflanzen mit hoher Chiasmenfrequenz kommen bereits V- und VI-Verände vor.

6. Im Diplotän wurde bei Pflanzen mit der niedrigsten beobachteten Metaphasenpaarung (= nahezu vollständige Asynapsis) weitgehende Paarung beobachtet. Diese gepaarten Chromosomen fallen bis zur M_I sukzessiv auseinander und erscheinen hier als Univalente.

7. Die Diskussion der beobachteten Paarungsvariabilität erfolgt in einer Sonderarbeit (GAUL 1953a). Hier konnte gezeigt werden, daß diese Asynapsis der Bastarde sehr wahrscheinlich genisch kontrolliert wird. Weiterhin war es möglich auf einer mathematischen Grundlage die tatsächliche Anzahl der (partiell) homologen (= „paarungsfähigen“) Chromosomen zu errechnen, die jenseits der in dem untersuchten Material realisierten liegt.

8. Die bei *Secale cereale* $\times$ *A. intermedium* beobachtete Paarung wird als Autosyndese zweier *intermedium*-Genome (I_1I_2) angesehen, die beträchtliche partiell homologe Beziehungen haben müssen. Diese Auffassung wird gestützt, durch (a) die isolierte Stellung des Roggengenoms, (b) die Quadrivalentbildung bei *A. intermedium*, (c) die autosyndetische Paarung von *intermedium* bei Haplo-

Diploiden der Genomformel $\frac{Triticum I_1I_2 X m}{Triticum}$ von KHIZNJAK, THOMPSON und

GRAFIUS und OHLENDORF (meist bis zu 7_{II}), (d) eine Reihe von Kreuzungen zwischen verschiedenen *Aegilops*-Arten und *A. intermedium* von FAVORSKY, bei denen die Bastarde stets $7-21_{II}$ bildeten und schließlich (e) durch die Tatsache,

daß in dem Genus *Agropyrum* offenbar die Autoploidie eine größere Rolle spielt als in den verwandten Gattungen.

9. Bei *T. aestivum* $\times$ *A. intermedium* wurden etwa 40 paarungsfähige Chromosomen errechnet und streuungsmäßig maximal 37 beobachtet, bei $4n$ *Triticum* $\times$ *A. intermedium* etwa 32 bzw. 26. Mindestens 14 Chromosomen werden als Autosyndese von *intermedium* angesehen (I_1I_2). Da bei gleichem *intermedium*-Elter in den entsprechenden $5n$ -Hybriden (9 Pflanzen) gegenüber den $6n$ -Bastarden (8 Pflanzen) bis zu durchschnittlich 13,16 Chromosomen weniger beobachtet wurden, ist die Annahme nicht unberechtigt, daß die Beziehungen des dritten *intermedium*-Genoms X_m zu D von *Triticum* stärker sind als zu AB . Es wird die Hypothese aufgestellt, daß *Aegilops mutica* oder eine verwandte Form der diploide Träger des X_m -Genoms ist. *Ae. mutica* erfüllt offenbar die theoretisch gesuchten Forderungen, (a) starke Beziehungen zum D -Genom, (b) etwas schwächere zu AB (Ergebnisse von KIHARA) und (c) starke morphologische Merkmalsgemeinsamkeiten mit *A. intermedium*. Auch FAVORSKYs Kreuzungen (s. oben) zeigen Beziehungen zwischen *A. intermedium* und *Aegilops*. Die Entstehung des $6n$ auto-allopoliden *A. intermedium* kann man sich aus der Kreuzung einer tetraploiden $I_1I_1I_2I_2$ (oder $IIII$) mit *Ae. mutica* oder einer verwandten Art vorstellen. Das X_m -Genom nimmt in den Weizenbastarden eine zentrale Stellung ein, es kann mit D 14 Chromosomen binden, mit AB mindestens 16 und mit I_1I_2 wahrscheinlich 18—20. Schließlich sind an den 40 paarungsfähigen Chromosomen von $ABD \times I_1I_2X_m$ neben $14I_1I_2 + 14X_mD$ und einiger X_mAB -Chromosomen auch eine unbestimmte Anzahl autosyndetisch gepaarter Weizenchromosomen einbeschlossen.

Die Arbeit wurde am Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Erwin-Baur-Institut, Voldagsen, in den Jahren 1950 und 1951 durchgeführt. Dem Direktor dieses Institutes, meinem hochverehrten Lehrer Herrn Professor Dr. RUDOLF, danke ich für seine ständige, anregende Förderung der Arbeit.

Für ihre umsichtige Hilfe danke ich Fräulein MITTELSTENSCHIED aufrichtig. Fräulein Dr. OHLENDORF bin ich für die Einweisung in Material und Problematik zu Dank verbunden. Nicht zuletzt aber möchte ich meiner Frau für ihre unermüdliche Hilfe auch an dieser Stelle meinen herzlichen Dank sagen.

Literatur.

- AASE, H. C.: Cytology of *Triticum*, *Secale* and *Aegilops* hybrids with reference to phylogeny. Res. Stud. State Coll. Washington **2**, 1 (1930). — Cytology of cereals. II. Bot. Review **12**, 255 (1946). — ARARATJAN, A. G.: The chromosome numbers of certain species and forms of *Agropyrum*. Sovet. Bot. **6**, 109 (1938.) Ref. in: Plant Breed. Abs. **9**, 1080. — ARMSTRONG, J. M.: Hybridization of *Triticum* and *Agropyron*. I. Crossing results and description of the first generation hybrids. Canad. J. Res. Sect. C, **14**, 190 (1936). — Investigations in *Triticum-Agropyron* hybridization. Empire J. Exper. Agricult **13**, 41 (1945). — ATWOOD, S. S.: Cytogenetic and breeding of forage crops. Adv. Genet. **1**, 1 (1947). — AVDULOW, N. P.: Karyo-systematische Untersuchung der Familie Gramineen. Bull. Appl. Bot., Genet. a. Plant-breed. Suppl. **43**, 1 (1931). — BEASLEY, J. O., and M. S. BROWN: Asynaptic *Gossypium* plants and their polyploids. J. Agricult. Res. **65**, 421 (1942). — BELL, G. H. D., and LEO SACHS: Investigations in the *Triticinae*. II. The cytology and fertility of intergeneric and interspecific F_1 hybrids and their derived amphidiploids. J. Agricult. Sci. **43**, 105 (1953). — BERG, K. H., v.: Autosyndese in *Aegilops triuncialis* $\times$ *Secale cereale* L. Z. Züchtung A **17**, 55 (1931). — Mitt. an v. ROSENSTIEL 1949. — BERG, K. H., v., u. E. OEHLER: Untersuchungen über die Zytogenetik amphidiploider Weizen-Roggenbastarde. Züchter **10**, 226 (1938). — BOLLE, L., u. J. STRAUB: Die Paarungskräfte im Hetero- und Euchromatin von tetraploider *Impatiens Balsamina*. Planta (Berl.) **32**, 489 (1941/42). — CHIN, T. C.: Cytology of the autotetraploid rye. Bot. Gaz. **104**, 627 (1943). — Wheat-rye hybrids. J. Hered. **37**, 195

(1946). — CICIN, N. W.: The *Triticum-Agropyrum* hybrids. Lenin Acad. Agric. Sci., Siberian Inst. Grain Cult., Omsk **1**, 101 (1933). Ref. in: Plant Breed. Abst. **5**, 78. — Das Problem der Winter- und der mehrjährigen Weizen. Weizen-Queckenbastarde. Ogis-Selchosgis. Moskwa 1935. — Das Problem der Weizen-Queckenbastarde. Ogis-Selchosgis. Moskwa 1937. — BREED, Seed Growing **10**, 4 (1940). Zit. bei SEARS 1948. — CLAUSEN, J., D. D. KECK and W. M. HIESEY: Experimental studies on the nature of species. II. Plant evolution through amphidiploidy and autopolloidy, with examples from the Madiinae. Carnegie Inst. Publ. **564**, 1 (1945). — DARLINGTON, C. D.: Meiosis in diploid and tetraploid *Primula sinensis*. J. Genet. **24**, 65 (1931). — Recent advances in cytology. London 1937. — The prime variables of meiosis. Biol. Review **15**, 307 (1940). — DARLINGTON, C. D., and L. LA COUR: The handling of chromosomes. London 1947. — FIG. A.: Monographisch-kritische Übersicht der Gattung *Aegilops*. Rep. Spec. nov. regni veget., Bd. 55. Dahlem bei Berlin 1929. — ELLENGÖRN, J. A. E., and K. A. PETROVA: On differentiated staining of hybrid chromosomes. Bot. Z. **33**, 40 (1948). — ELLIOT, F. C., and M. LOVE: The significance of meiotic behavior in the breeding smooth bromegrass, *Bromus inermis* Leyss. J. Amer. Soc. Agron **40**, 335 (1948). — FAVORSKY, N. V.: The reduction division in hybrids from *Secale cereale* × *Agropyrum cristatum* (L) Gaertn. with reference to their sterility. (Engl. Zusammenfassung.) Soc. Zern. Hoz. Saratov **1**, 115 (1935). Ref. in: Herb. Abst. **6**, 82. — Reductive division of F_1 hybrids of some *Aegilops* with *Agropyrum intermedium* (preliminary information). (Engl. Zusammenfassung.) Soc. Zern. Hoz. Saratov **6** (1), 95 (1936). Ref. in: Plant Breed. Abst. **7**, 157. — Microsporogenesis in the first hybrid generation from the cross of certain durum wheats with *Agropyrum intermedium*. Cytology of Cult. Plants **1937a**, 3. Zit. bei KOSTOFF 1941a. — Reduction division in pollen mother cells of the hybrid *Secale cereale* × *Agropyrum intermedium*. Cytology of Cult. Plants **1937b**, 45. Zit. bei KOSTOFF 1941a. — Cytological studies on *Aegilops-couch* grass hybrids. Cytology of Cult. Plants **1937c**, 12. Zit. bei KOSTOFF 1941a. — FREISLEBEN, R.: Untersuchungen an tetraploiden Kulturgersten. Forschungsdienst (Sonderh.) **16**, 361 (1942). — GAUL, H.: Asynapsis und ihre Bedeutung für die Genomanalyse. Z. Vererbgslehre (im Druck 1953a). — Über meiotische Fragment- und Brückenbildung der Bastarde *Secale* und *Triticum* × *Agropyrum*. Chromosoma (im Druck 1953b). — GEITLER, L.: Schnellmethoden der Kern- und Chromosomenuntersuchung. S. 1—27. Berlin: Gebrüder Bornträger 1940. — GODLEY, E. J.: Two natural *Agropyron* hybrids occurring in the British Isles. Ann. Bot. **15**, 535 (1951). — HARTUNG, M. E.: Chromosome numbers in *Poa*, *Agropyron*, and *Elymus*. Amer. J. Bot. **33**, 516 (1946). — JOHNSON, L. P. V.: Hybridization of *Triticum* and *Agropyron*. IV. Further crossing results and studies on the F_1 -hybrids. Canad. J. Res., Sect. C **16**, 417 (1938). — KAGAWA, F., and Y. CHIZAKI: Cytological studies on the genus hybrids among *Triticum*, *Secale* and *Aegilops*, and the species hybrids in *Aegilops*. Jap. J. of Bot. **7**, 1 (1934). — KAPLAN, R.: Chromosomen- und Faktormutationsraten in Gerstenkörnern bei verschiedenartigen Quellungsbehandlungen oder Kälte während oder nach der Röntgenbestrahlung sowie bei Dosisfraktionierung. Z. Vererbgslehre **83**, 347 (1951). — KATTERMANN, G.: Die cytologischen Verhältnisse einiger Weizenroggenbastarde und ihrer Nachkommenschaft („ F_2 “). Züchter **6**, 97 (1934). — Die Chromosomenverhältnisse bei Weizen-Roggenbastarden der zweiten Generation mit besonderer Berücksichtigung der Homologiebeziehungen. Z. Vererbungslehre **70**, 265 (1935). — KHIZNJAK, V. A.: Cytological study of *Triticum-Agropyrum* hybrids and the method of breeding perennial wheats. Proc. Azov-Black Sea Select. Cent. Issue **1**, 25 (1936a). Extended Summary Imp. Bur. Plant Breed. a. Genet., Cambridge. — Form development in *Triticum-Agropyrum* hybrids and the production of perennial wheats. Selekeija i Semenovodstvo **12**, 20 (1936b). Ref. in: Plant Breed. Abs. **7**, 1212. — Form-genesis in wheat-*Agropyrum* hybrids. Bull. Acad. Sci. URSS., Ser. Biol. 1948: 597. Extended Summary Imp. Bur. Plant. Breed. a. Genet., Cambridge. — KIHARA, H.: Cytologische und genetische Studien bei wichtigen Getreidearten mit besonderer Rücksicht auf das Verhalten der Chromosomen und die Sterilität in den Bastarden. Mem. Coll. Sci., Kyoto Imp. Univ., Ser. B **1**, 1 (1924). — Conjugation of homologous chromosomes in the genus hybrids *Triticum* × *Aegilops* and species hybrids of *Aegilops*. Cytologia Tokyo **1**, 1 (1929). — Genomanalyse bei *Triticum* und *Aegilops*. VII. Kurze Übersicht über die Ergebnisse der Jahre 1934/36. Mem. Coll. Agric., Kyoto Imp. Univ. **41**, 1 (1937). — Verwandtschaft der *Aegilops*-Arten im Lichte der Genomanalyse. Ein Überblick. Züchter **12**, 49 (1940). — Die Entdeckung des DD-Analysators beim Weizen. Vorläufige Mitteilung. Agric. Hort. **19**, 889 (1944). — Discovery of the DD analyser

in wheat. Seiken Ziho **3**, 1 (1947). — Genomanalyse bei *Triticum* und *Aegilops*. IX. Systematischer Aufbau der Gattung *Aegilops* auf genomanalytischer Grundlage. *Cytologia Tokyo* **14**, 135 (1949). — KIHARA, H., u. F. LILIENFELD: Genomanalyse bei *Triticum* und *Aegilops*. IV. Untersuchungen an *Aegilops* $\times$ *Triticum* und *Aegilops* $\times$ *Aegilops*-Bastarden. *Cytologia Tokyo* **3**, 384 (1932). — Genomanalyse bei *Triticum* und *Aegilops*. V. *Triticum Timopheevi* Zhuk. *Cytologia Tokyo* **6**, 87 (1935a). — Genomanalyse bei *Triticum* und *Aegilops*. VI. Weitere Untersuchungen an *Aegilops* $\times$ *Triticum* und *Aegilops* $\times$ *Aegilops*-Bastarden. *Cytologia Tokyo* **6**, 195 (1935b). — A new synthesized 6n-wheat. Proc. 8. Internat. Congr. Genet. Stockholm 1948. *Hereditas* (Lund) Suppl. **1949**, 307. — KIHARA, H., u. I. NISHIYAMA: Genomanalyse bei *Triticum* und *Aegilops*. I. Genomaffinitäten in tri-, tetra- und pentaploiden Weizenbastarden. *Cytologia Tokyo* **1**, 263 (1930). — KIKOT, I. I., u. E. F. VOLKOVA: Sterilität und Fertilität der Weizen-Queckenbastarde. In Cicin, S. 85—105. 1937. — KISCH, R.: Die Bedeutung der Wasserversorgung für den Ablauf der Meiosis. (Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis VI.) *Jb. wiss. Bot.* **85**, 450 (1937). — KOLLER, S.: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1943. — KONDO, N.: Chromosome doubling in *Secale*, *Haynaldia* und *Aegilops* by colchicine treatment. *Jap. J. Genet.* **17**, 46 (1941). — KOSTOFF, D.: Heterochromatin at the distal ends of chromosomes in *Triticum monococcum*. *Nature* (Lond.) **141**, 690 (1938a). — The most probable place of location of the genes in the chromonemata. *Nature* (Lond.) **141**, 749 (1938b). — Heterochromatin, somatic „crossing-over“ and the interchange hypothesis between non-homologous chromosomes. *Proc. Indian Acad. Sci.* **8**, 11 (1939a). — Autosyndesis and structural hybridity in F_1 -hybrid *Helianthus tuberosus* L. $\times$ *Helianthus Annuus* L. and their sequences. *Genetica* (s-Gravenhage) **21**, 285 (1939b). — Wheat phylaxis and wheat breeding. *Bibliogr. Genet.* **13**, 149 (1941a). — Das Verhalten der Chromosomen in Weizenbastarden. IV. Die natürlichen Gattungsbastarde *Triticum Timopheevi* $\times$ *Agropyron repens*. *Züchter* **13**, 269 (1941b). — Haploide *Triticum vulgare* und die Variabilität ihrer Nachkommenschaften. *Züchter* **15**, 121 (1943). — KOSTOFF, D., u. N. ARUTIUNOVA: Studies on polyploid plants. *Triticum-Haynaldia* hybrids with special reference to the amphidiploids *Triticum dicoccum* $\times$ *Haynaldia villosa*. *Current Sci.* **5**, 414 (1937). — LAMM, R.: Cytological studies on inbred rye. *Hereditas* (Lund) **22**, 217 (1936). — LEIN, A.: Die genetische Grundlage der Kreuzbarkeit zwischen Weizen und Roggen. *Z. Vererbungslehre* **81**, 28 (1943). — Über Rückkreuzungsversuche eines amphidiploiden Weizen $\times$ Roggen-Bastards mit Roggen. *Kühn-Arch.* **60**, 226 (1943/44). — LEVAN, A.: Syncyte formation in the pollen mother cells of haploid *Phleum pratense*. *Hereditas* (Lund) **27**, 243 (1941). — Studies on the meiotic mechanism of haploid rye. *Hereditas* (Lund) **28**, 177 (1942). — LEWITZKY, G. A., u. G. K. BENETZKAJA: Cytology of the wheat-rye amphidiploids. *Bull. Appl. Bot.* **27**, 241 (1932). — LILIENFELD, F. A.: Karyologische und genetische Studien an *Fragaria*. II. Ist *Fragaria elatior* eine autopolyploide Pflanze? *Jap. J. of Bot.* **8**, 119 (1936). — Genome-analysis in *Triticum* und *Aegilops*. X. Concluding review. *Cytologia Tokyo* **16**, 101 (1951). — LINDSCHAU, M., u. E. OEHLER: Untersuchungen am konstant intermediären additiven Rimpauschen Weizen-Roggenbastard. *Züchter* **7**, 228 (1935). — LINNERT, G.: Untersuchungen über die Cytologie polyploider Pflanzen. I. *Chromosoma* **3**, 328 (1948). — — Untersuchungen über die Cytologie polyploider Pflanzen. II. *Chromosoma* **3**, 399 (1949). — LOVE, R. M., and C. A. SUNESON: Cytogenetic of certain *Triticum-Agropyron* hybrids and their fertile derivatives. *Amer. J. Bot.* **32**, 451 (1945). — LUBIMOVA, V. F.: Der Roggen-Queckenbastard. In Cicin, S. 85—105. 1937. — MARQUARDT, H.: Die Meiosis von *Oenothera*. I. *Z. Zellforsch.* **27**, 159 (1938). — McCLINTOCK, B.: A cytological and genetical study of triploid maize. *Genetics* **14**, 180 (1929). — McFADDEN, E. S., and E. R. SEARS: The artificial synthesis of *Triticum spelta*. *Rec. Genet. Soc. Amer.* **13**, 26 (1944). — The artificial synthesis of *Triticum spelta*. *Genetics* **30**, 14 (1945) Abst. — The origin of *Triticum spelta* and its free-threshing hexaploid relatives. *J. Hered.* **37**, 81, 107 (1946). — The genome approach in radical wheat breeding. *J. Amer. Soc. Agron.* **39**, 1011 (1947). — MOWERY, M.: Development of the pollen grain and the embryo sac of *Agropyron repens*. *Bull. Torrey Bot. Club* **56**, 319 (1929). — MÜNTZING, A.: Quadrivalent formation and aneuploidy in *Dactylis glomerata*. *Bot. Not.* (Lund) **198** (1933). — Triple hybrids between rye and two wheat species. *Hereditas* (Lund) **20**, 137 (1935a). — Cytogenetic studies on hybrids between two *Phleum* species. *Hereditas* (Lund) **20**, 103 (1935b). — The evolutionary significance of autopolyploidy. *Hereditas* (Lund) **21**, 263 (1936). — The effects of chromosomal variation in *Dactylis*. *Hereditas* (Lund) **23**,

113 (1937). — Cytogenetic properties and practical value of tetraploid rye. *Hereditas* (Lund) **37**, 17 (1951). — MÜNTZING, A., u. R. PRAKKEN: The mode of chromosome pairing in *Phleum* twins with 63 Chromosomes and its cytogenetic consequences. *Hereditas* (Lund) **26**, 463 (1950). — Chromosomes aberrations in rye populations. *Hereditas* (Lund) **27**, 273 (1941). — MYERS, W. M.: Meiotic behavior of *Phleum pratense*, *Phleum subulatum*, and their F_1 hybrid. *J. Agricult. Res.* **63**, 649 (1941). — Analysis of variance and covariance of chromosomal association and behavior during meiosis in clones of *Dactylis glomerata*. *Bot. Gaz.* **104**, 541 (1943). — Cytological and genetic analysis of chromosomal association and behavior during meiosis in hexaploid Timothy (*Phleum pratense*). *J. Agricult. Res.* **68**, 21 (1944). — Increased meiotic irregularities and decreased fertility accompanying inbreeding in *Dactylis glomerata*. *J. Amer. Soc. Agron.* **40**, 249 (1948). — MYERS, W. M., and H. D. HILL: The association and behaviour of chromosomes in autotetraploid grasses. *Genetics* **25**, 129 (1940a) Abs. — Studies of chromosomal association and behaviour and the occurrence of aneuploidy in autotetraploid grass species, orchard grass, tall oat grass, and crested wheat grass. *Bot. Gaz.* **102**, 236 (1940b). — Variation in chromosomal association and behaviour during meiosis among plants from open-pollinated populations of *Dactylis glomerata*. *Bot. Gaz.* **104**, 171 (1942). — NEVSKI, S. A.: *Hordeae*, Benth. in Komarovi. *Flora USSR.* **2**, 590 (1934). — NIELSEN, E. L., and L. M. HUMPHREY: Grass studies I. Chromosome numbers in certain members of the tribes Festucaceae, Hordeae, Aveneae, Agrostideae, Chlorideae, Phalarideae and Tripsacaceae. *Amer. J. Bot.* **24**, 276 (1937). — NORDENSKIÖLD, H.: Intra- and interspecific hybrids of *Phleum pratense* and *P. alpinum*. *Hereditas* (Lund) **23**, 304 (1937). — Studies of a haploid rye plant. *Hereditas* (Lund) **25**, 204 (1939). — Cytological studies in triploid *Phleum*. *Bot. Not. (Lund)* **12** (1941). — OEHLKERS, F.: Neue Versuche über zytologisch-genetische Probleme (Physiologie der Meiosis). *Biol. Zbl.* **57**, 126 (1937). — Zytologische und zytogenetische Untersuchungen an *Streptocarpus*. *Z. Bot.* **39**, 113 (1944). — OHLENDORF, A.: Zytologische Untersuchungen an Weizen-Quecken-Bastarden. *Züchter* **22**, 34 (1952). — ÖSTERGREN, G.: A hybrid between *Triticum turgidum* and *Agropyron junceum*. *Hereditas* (Lund) **26**, 395 (1940a). — Cytology of *Agropyron junceum*, *A. repens* and their spontaneous hybrids. *Hereditas* (Lund) **26**, 305 (1940b). — PÄTAU, K.: Eine neue χ^2 -Tafel. *Z. Vererbungslehre* **80**, 558 (1942). — PARDI, L.: Il numero dei cromosomi dell' *Agropyron junceum* P. P. del litorale atlantico e del litorale mediterraneo. *Nuovo Giorn. bot. ital.* **44**, 645 (1937). — PETO, F. H.: Chromosome numbers in the *Agropyrons*. *Nature* (Lond.) **124**, 181 (1929). — Cytological studies in the genus *Agropyron*. *Canad. J. Res.* **3**, 428 (1930). — Hybridization of *Triticum* and *Agropyron*. II. Cytology of the male parents and F_1 generation. *Cand. J. Res., Sect. C*, **14**, 203 (1936a). — Heat induced tetraploidy in barley. *Canad. J. Res., Sect. C* **14**, 445 (1936b). — POPE, W. K.: Comparative cytology of colchicine-induced and open pollinated derivatives of hybrids of *Agropyron trichophorum* with *Triticum durum*, *T. Timopheevi*, and *T. macha*. Report of the fifth Western Wheat Conference 1950, S. 82. — POPOVA, G. I.: Cytologische Untersuchung eines neuen Bastardes *Triticum Timopheevi* $\times$ *Agropyron elongatum*. *Cytologia Tokyo* **9**, 495 (1939). — PRAKKEN, R.: Studies of asynapsis in rye. *Hereditas* (Lund) **29**, 475 (1943). — PROKUDIN, Y.: *Agropyron* species in the Ukraine. *Proc. Bot. Inst. Kharkov III* **14**, 159 (1938). (Ukrainisch, englische Zusammenfassung.) — ROSENDAHL, G.: Zytologische Untersuchungen an tetraploiden Gersten. *Kühn-Arch.* **60**, 238 (1943/44). — ROSENSTIEL, K. v.: In K. ISENBECK u. v. ROSENSTIEL, K. Weizen. *Triticum L. Handbuch der Pflanzenzüchtung*, Bd. II, S. 289 bis 529. Berlin u. Hamburg: Parey 1949. — SAPEHIN, A. A.: Zytologische Untersuchungen von *Triticum* $\times$ *Agropyrum*-Hybriden. *Bot. Z.* **20**, 119 (1935). [Engl. Zusammenfassung.] — SEARS, E. R.: Chromosome pairing and fertility in hybrids and amphidiploids in the *Triticinae*. *Res. Bull. Agric. Exper. Stat.* **337**, 1 (1941). — The cytology and genetics of the wheats and their relatives. *Adv. Genet.* **2**, 239 (1948). — SIMONET, M.: Sur la valeur taxinomique de l'*agropyrum acutum* Roem. et S. Contrôle cytologique. *Bull. Soc. bot. France* **81**, 801 (1934). — Contributions à l'étude cytologique et génétique de quelque *Agropyrum*. *C. r. Acad. Sci. Paris* **201**, 1210 (1935a). — Observations sur quelques espèces et hybrides d'*Agropyrum*. I. Revision de l'*Agropyrum junceum*. (L.) P. B. et de l'*A. elongatum* (Host) P. B. d'après l'étude cytologique. *Bull. Soc. bot. France* **82**, 624 (1935b). — SIMONET, M., et M. GUINOCHET: Observations sur quelques espèces et hybrides d'*Agropyrum*. II. Sur la répartition géographique de l'*Agropyrum junceum* (L.) P. B. *Bull. Soc. bot. France* **85**, 175 (1938). — SPIKOV, T. P.: A contribution to the cytology of *Agropyrum-Triticum* hybrids. Preliminary

communication. Bull. Appl. Bot., Genet. a. Plant Breed, II 9, 357 (1936). [Engl. Zusammenfassung.] — SMITH, D. C.: Intergeneric hybridization of cereale and other grasses. J. Agricult. Res. 64, 33 (1942). — Intergeneric hybridization of Triticum and other grasses, principally Agropyron. J. Hered. 34, 219 (1943). — SMITH, L.: Haploidy in Einkorn. J. Agricult. Res. 73, 291 (1946). — STEBBINS jr., G. L.: Cytological characteristics associated with the different growth habits in the dicotyledons. Amer. J. Bot. 25, 189 (1938). — Types of polyploids: their classification and significance. Adv. Genet. 1, 403 (1947). — STEBBINS, jr. G. L., and R. SINGH: Artificial and natural hybrids in the Gramineae, tribe Hordeae. IV. Two triploid hybrids of Agropyron and Elymus. Amer. J. Bot. 37, 388 (1950). — STEBBINS jr., G. L., J. I. VALENCIA and R. M. VALENCIA: Artificial and natural hybrids in the Gramineae, tribe Horedeae. I. Elymus, Sitanion, and Agropyron. Amer. J. Bot. 33, 338 (1946). — STOLZE, K. V.: Die Chromosomenzahlen der hauptsächlichen Getreidearten nebst allgemeinen Betrachtungen über Chromosomen, Chromosomenzahl und Chromosomengröße im Pflanzenreich. Bibliogr. genet. ('s.Gravenhage) 8, 1 (1925). — STRAUB, J.: Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. VII. Die Abhängigkeit der Chiasmabildung bei Vicia Faba und Campanula persicifolia von äußeren Bedingungen. Z. Bot. 32, 225 (1938). — Chromosomenuntersuchungen an den polyploiden Blütenpflanzen. Ber. dtsh. bot. Ges. 57, 531 (1939). — THOMPSON, D. L., and J. E. GRAFIUS: Cytological observations of the F_1 and two backcross generations of Triticum vulgare $\times$ Agropyron trichophorum. Agricult. J. 42, 298 (1950). — URCOTT, M.: The genetic structure of Tulipa. III. Meiosis in polyploids. J. Genet. 37, 303 (1939). — VAKAR, B. A.: Triticum-Agropyrum hybrids. A hylogenetical investigation. Bull. Appl. Bot., Genet. a. Plant Breed II 8, 121 (1935a) [engl. Zusammenfassung]. — Zytologische Untersuchung der ersten Generation der Weizen-Queckengrasbastarde. Züchter 7, 199 (1935b). — Zytologische Untersuchung über F_1 der Weizen-Queckengrasbastarde. Cytologia, Tokyo 7, 293 (1936). — Zytologie der Weizen-Queckenbastarde. In Cicin, S. 85 bis 105. 1937a. — Zytologische Untersuchungen der selbstfertilen ersten Generation der Weizen-Queckengrasbastarde. Cytologia, Tokyo 8, 67 (1937b). — A cytological study of F_1 — F_6 Triticum vulgare $\times$ Agropyrum intermedium hybrids. Bull. Acad. Sci. USSR., Ser. Biol. 3, 627 (1938). — VERUSCHKIN, S. M.: On the hybridization of Triticum $\times$ Agropyron. Peoples Commissariat Agric. USSR. Saratov, S. 39. Plant Breed. Abs. 6, 138 (1935). — The relationship between the genera Agropyrum and Triticum. J. Bot. USSR. 21, 176 (1936). — VERUSCHKIN, S. M., and A. SECHURDIN: Hybrids between wheat and couch grass. J. Hered. 24, 328 (1933). — WARMKE, H. E., and A. F. BLAKESLEE: Induction of simple and multiple polyploidy in Nicotiana by colchicine treatment. J. Hered. 30, 419 (1939). — WHITE, W. J.: Intergeneric crosses between Triticum and Agropyron. Sci. Agricult. 21, 198 (1940). — WIEBALCK, U.: Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. XI. Reifeteilung und Kohlehydratspiegel der Pflanze. Z. Bot. 36, 161 (1940/41). — ZHUKOVSKY, P. N.: A critical-systematical survey of the species of the genus Aegilops. L. Bull. Appl. Bot. 18, 417 (1928). [engl. Zusammenfassung]. — ZIMMERMANN, J.: Hegi, Illustrierte Flora von Mitteleuropa, 2. Aufl., Bd. I. 1935.

Dr. HORST GAUL,

Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Voldagsen über Elze.

Institute of Animal Genetics, The University, Edinburgh.

ANALYSIS OF THE MUTAGENIC ACTION OF FORMALDEHYDE FOOD.

II. THE MUTAGENIC POTENTIALITIES OF THE TREATMENT.

By

C. AUERBACH and H. MOSER.

(Eingegangen am 14. September 1953.)

Introduction.

The last ten years have seen a rapid increase in the number of chemical substances able to produce genic and/or chromosomal effects. Only a few of them have to date been analysed for the range of their mutagenic potentialities. Yet such analyses are of importance; for by revealing differences between mutagens, they may shed light not only on the action of the mutagens concerned, but also on the much discussed and not yet satisfactorily settled question of the relationship between various types of genetical effect, such as "point mutations", small deficiencies, chromosome breaks and crossing-over. Mutagens which have been analysed from this point of view have been found to produce the same array of genetical effects, although not in the same proportions. This is also true for formaldehyde when added to the food of *Drosophila* larvae (AUERBACH 1951 a, b). It is the purpose of this paper to present detailed evidence for this statement and to discuss its implications.

When our experiments were practically finished, we became aware of a publication by RAPOPORT (1947), in which a theory of the mutagenic action of formaldehyde is based largely on the fact that RAPOPORT found no evidence for the induction of chromosome breakage or re-arrangements by the treatment. Possible reasons for this negative result will be discussed.

Two features which distinguish mustard gas from X-ray mutagenesis are the relative scarcity of translocations and the high frequency of mosaics in the progeny of mustard gas treated *Drosophila* ♂♂. Data will be presented to show that formaldehyde mutagenesis has the same two peculiarities. The interpretation of this finding must take account of the fact that formaldehyde food, in contrast to all other known mutagens, acts exclusively or almost exclusively during the long interphase stage which, in the larval testis, precedes meiosis, and that no genetical effects are produced on meiotic or post-meiotic cells (AUERBACH and MOSER 1953).

Although from the first it was clear that formaldehyde food produces mutations in many loci and on all chromosomes, attempts have been made to find subtler types of specificity by studying the distribution of lethals between and within chromosomes, the types and frequencies of visible mutations, and the ratio between visible and lethal recessive mutations.

Material and methods.

A wild-type strain, Oregon-K (Or-K) has been used throughout. This strain has been kept in our laboratory for many years and has a spontaneous mutation rate of 0.3%.

The technique of treatment has been described in detail in the first paper of this series (AUERBACH and MOSER 1953). Mutation rate for a given concentration of formaldehyde in the food depends on a number of factors, notably the age of the larvae during treatment, the age of the formaldehyde solution, the type of the food medium used, and the degree of crowding during treatment. Since satisfactory standardization of all these conditions is difficult, if not impossible, quantitative comparisons have been carried out only between series of the same experiment, i. e. on flies of the same age, which had been treated together. When successive broods are raised from treated ♂♂, the existence of a "brood gradient" (see first paper of this series) had to be taken into account, and each brood was considered as a separate experiment with its own degree of response to the treatment.

The following effects were studied with the aid of standard genetical techniques: sex-linked and autosomal recessive lethals, dominant lethals, large re-arrangements, small deficiencies, visible mutations, and gynandromorphs. More details of technique will be given in the respective sections.

Results.

1. Recessive lethals.

Most of our data on recessive lethals have been recorded in the first paper of this series. Here it will be sufficient to mention a few points which have a bearing on the present analysis.

Mutation rates on the second and first chromosome are proportional to the relative lengths of these chromosomes: in three experiments in which the same ♂♂ were tested for lethals on both these chromosomes, the ratios of lethals on the second to that on the first chromosome were 2.0, 2.3, and 2.7 respectively.

Location of sex-linked lethals is now being carried out. About 50 of them, which so far have been located, are scattered over the whole length of the X-chromosome.

There were repeated occurrences of gonadic mosaics for a sex-linked lethal, i. e. F_1 ♀♀ which carried a lethal in only part of their ovaries, the remainder carrying the normal allelomorph. No attempt was made to relate the frequency of these cases to mutation rate.

2. Dominant lethals.

The percentage of unhatched eggs from ♀♀ which have been mated to treated ♂♂ is generally scored as "dominant lethality". Unless there is proof that non-hatchability is caused by zygotic lethality, this term is misleading; for infertility of treated ♂♂ may have other than genetical causes. Although, as will appear later on, there is good reason for supposing that non-hatchability after treatment of the father will formaldehyde food is only partly due to zygotic lethality, the term "dominant lethality" has been retained for the purpose of comparison with sex-linked lethals.

♂♂ for these tests were treated on either the first or second day of larval life. This age difference, as will be seen, has influenced the results. In some experiments, larvae were re-transferred to the normal maize meal-molasses medium

after 24 hours on the treated one; in others, no re-transfer was carried out and larvae stayed on the treated medium until eclosion. It is unlikely that this difference in technique has been important; for, as will be shown in a separate publication, formaldehyde food quickly loses its mutagenic and toxic properties when worked through by *Drosophila* larvae.

♂♂ to be tested were mated individually to one ♀ each. As soon as the ♀♀ had started to lay well, hatchability of egg samples from two successive nights was determined separately for each couple. This allows the detection of couples which had produced eggs, but no larvae. In these so-called "zero-couples" the ♀ may not have been fertilized. Their eggs were therefore not scored, although the distribution of zero-couples between and within series indicates that at least some of them had, in fact, mated and formed the tail-end of distributions about a low mean hatchability. Their exclusion from the data will thus result in a slight overestimate of hatchability in the series in which they occurred, i. e. mainly in the treated series.

Controls were used in all experiments but one. Control larvae were transferred from untreated to treated medium and *vice versa* whenever such transfer was carried out in the corresponding treated series. Tests for hatchability were done simultaneously in the control and treated series. Where control data were available, hatchability in the treated series was expressed in percent of control hatchability as "relative hatchability", and the difference between 100% and this value was recorded as "relative dominant lethality".

In some experiments, Muller-5 tests for sex-linked lethals were run on aliquots of the treated ♂♂. In several experiments, the toxic effect of the treatment on the larvae was measured by the percentage of them which developed into adult flies (survival rate).

The data for all experiments are set out in Table 1.

A number of facts emerge from the table.

a) Hatchability was low in all treated series, ranging from 6% to 66%. In all experiments with controls, the difference in hatchability between treated and control series was highly significant.

b) In the three experiments in which treatment was given simultaneously to first- and second-day larvae, second-day treatment produced a significantly greater reduction in hatchability of the progeny than first-day treatment. In Expt. FF 20, in which parallel tests for sex-linked lethals were run on a sufficiently big scale, this difference in "dominant lethality" is not accompanied by a difference in the frequency of sex-linked lethals. This suggests that other than genetical factors contribute to the low fertility of the treated ♂♂. A comparison of survival rates between larvae treated on the first and on the second day shows that second-day larvae are much more sensitive to the toxic effect of the treated food. This follows also from a comparison of developmental delay after the two types of treatments. In Expt. FF 42, e. g., larvae treated during the first day started eclosion one day later than the controls, and the period during which eclosion occurred extended over 3 days as compared with 2 in the controls; larvae treated during the second day started eclosion 2 days later than the controls, and the period of eclosion was spread over 5 days as compared

Table 1. *Hatchability of eggs from untreated ♀♀ treated ♂♂.*

Experiments	CH ₂ O %	Genotype of ♀♀	Time of treatment in hours after laying of eggs	Survival of P ₁ in %	No. P ₁ ♂♂ mated	No. "Zero", pairs ¹	No. eggs		Hatchability %		Relative dominant lethality in %	Sex-linked lethals		Ratio dominant: recessive lethals
							laid	hatched	ob- served	rela- tive		n	%	
FF 20	0,18	<i>y w</i>	24-48 controls	81	25	4	771	304	39	43	57	680	3	19:1
			48-72 controls	64	13	0	415	374	90			381	3	24:1
FF 31	0,22	<i>vg</i>	24-48 controls	—	13	0	794	210	26	27	73			
			48-72 controls	—	27	1	482	463	96					
FF 42	0,22	<i>vg</i>	24-48	—	13	2	495	329	66					
			48-72	—	27	1	218	68	31					
			24-48 controls	67	7	1	181	105	58	67	33	302	1	33:1
			48-72 controls	90	20	0	200	172	86	7	93	22	5	19:1
FF 28	0,18	<i>v; dp; e</i>	24-eclosion controls	—	3	2	33	2	6					
			48-eclosion controls	—	19	1	180	151	85					
FF 32	0,18	<i>vg</i>	24-eclosion controls	—	28	3	409	135	33	42	58			
			48-eclosion controls	—	18	0	360	285	79					
FF 40	0,22	<i>vg</i>	24-eclosion controls	—	29	0	1103	238	22	28	72	276	9	8:1
			48-eclosion controls	20	27	1	938	739	78	41	59	418	5	12:1

¹ i. e. couples which produced eggs, but no larvae. These couples were excluded from the calculation of hatchability.

Note. In all experiments except FF 40, the medium for treatment consisted of 10% killed yeast, 10% dextrose, and 3% agar. In FF 40, dextrose had been omitted.

with 2 in the controls. It is reasonable to assume that those damaging properties of the formaldehyde medium which lower survival and delay eclosion will also affect development of the gonads. In fact, dissection of some completely sterile ♂♂ showed various grades of underdevelopment of the testes. It is true that such severely damaged ♂♂ would have been excluded from our tests because of their complete sterility; but in at least one case poorly developed testes were also found in a ♂ which had produced a few offspring.

This raises the question whether the whole effect of formaldehyde food on male fertility is due to such developmental disturbances; whether, in fact, treatment produces any true dominant, i. e. zygotic lethality. For a conclusive answer, microscopical examination of a sufficiently large sample of non-hatched eggs would be required, and this has not been done. There are, however, reasons

for assuming that zygotic lethality is responsible for at least part of the observed depression in hatchability.

The most compelling of these is the fact, proved in the next section, that formaldehyde food produces large deletions which, without special techniques for their recovery, must result in death of the zygote. Moreover, in the progeny of

Table 2. *A comparison between the frequency of sex-linked lethals and the ratio of dominant to sex-linked lethals in different experiments.*

Experi- ment	Day of treatment	Recessive lethals %	Dominant lethals %	Ratio dominant: recessive lethals
FF 42	1rst	1	33	33:1
FF 20	2nd	3	73	24:1
FF 20	1rst	3	57	19:1
FF 42	2nd	5	93	19:1
FF 40	2nd	5	59	12:1
FF 32	1rst	9	72	8:1

the same treated ♂♂, the frequency of "dominant lethals" varies between broods in a similar way as that of recessive lethals. Thus, when some ♂♂, which in Expt. FF 40 had produced progeny of only 19% hatchability, were left with ♀♀ and then re-tested 6 days later, hatchability in their progeny had risen to 58%. Although the egg samples tested were small, the difference between hatchability in the early and late broods was highly significant and paralleled that always found between recessive lethal frequency in early and late broods. Similarly, in Muller-5 tests, in which fertility of the treated ♂♂ can be estimated roughly by the number of F₁ offspring, broods with a high frequency of sex-linked lethals usually were very sterile; yet the same ♂♂ which had produced these broods had their fertility restored in later broods, from which sexlinked lethals were absent. Unless one assumes a very strict parallelism between physiological and genetical damage in successive generations of the germ track, these observations indicate that genetical factors contribute to the temporary infertility of the treated ♂♂.

c) If, instead of comparing successive broods in the same experiment, one compares first broods in different experiments, a curious relationship between dominant and recessive lethals emerges.

The two effects still increase in parallel, but the rate of increase is much slower for dominant lethals, with the result that the ratio of dominant to recessive lethals falls off as the frequency of recessive lethals rises. In Table 2, the data from Table 1 have been re-grouped so as to emphasize this point.

Mutation rates obtained in first broods after second-day treatment are not easily interpreted; for the testis of the second-day larvae has a transitional pattern of sensitivity to formaldehyde food, so that the majority of mutations may occur in the second brood. No such objection applies to data gained by first-day treatment. When only those are considered, the negative correlation between the values in the third and last columns of Table 2 becomes very clear; it persists even when allowance is made for the coincidence of several dominant lethals in the same sperm.

Various explanations are possible. The simplest is the assumption that non-genetic sterility plays a greater rôle with treatments which are genetically relatively ineffective. This fits in well with observations, to be published separately, which show that in general conditions of treatment which increase its toxicity, tend to reduce its genetical effectiveness.

In conclusion, our observations indicate that reduced survival in the progeny of treated ♂♂ is due to two causes: one genetical, increasing with the genetical effectiveness of the treatment, the other developmental, prominent under conditions which decrease genetical effectiveness.

3. Large re-arrangements.

a) *Deletions.* When treated wild-type ♂♂ are mated to attached-X ♀♀ homozygous for *yellow*, *vermilion*, and *forked* the presence of large deletions in the treated X results in hyperploid F_1 ♀♀ in which one or more of the marker genes are covered by their normal allelomorph in the X-chromosome fragment. Three experiments were carried out with this technique. In each experiment, an aliquot of the treated ♂♂ was tested for sex-linked lethals. This allows a comparison of the observed frequency of deletions with that to be expected in X-ray experiments producing the same percentages of sex-linked lethals. The latter was calculated by applying the $3/2$ power dosage-effect rule (MULLER 1940) to data by BISHOP (1938) and PONTECORVO (1940), which show that 4000 r units (equivalent to about 12% sex-linked lethals) produce roughly 1% large deletions of the types detectable with our method. In two experiments, only progeny produced during the first few days after mating was examined. In one, a second brood was obtained by transferring the ♂♂ with their mates to fresh culture bottles after 5 days; the two broods were treated like separate experiments (see "Material and Methods"). The results are summarized in Table 3.

Although in two experiments the frequency of large deletions fell short of expectation, the overall difference is statistically not significant.

When treated wild-type ♂♂ are mated to recessively marked ♀♀ with detached X-s, the presence of a paternal X-chromosome fragment in a zygote may result in a hyperploid, sterile ♂ in which one or more of the maternal markers are covered by their normal allelomorphs. Although no quantitative studies were carried out by this method, the occurrence of one sterile *white singed* ♂ in the progeny of treated Or-K ♂♂ and untreated *yellow white singed* ♀♀ is further proof for the ability of the treatment to produce large deletions.

Another large deletion, which arose as a mosaic, will be described in the section on small deficiencies and mosaics.

b) *Inversions*. No special attempt was made to detect inversions, but two were found incidentally. One manifested itself as a crossing-over inhibitor in an X-chromosome with an induced sex-linked lethal. Location tests with *sc* (*scute*) *ct* (*cut*) *v* (*vermilion*) *f* (*forked*) *car* (*carnation*) showed that the lethal was to the right of *v*. Crossing-over was completely suppressed between *f* and *car*, greatly reduced between *v* and *f*, and still markedly reduced between *ct* and *v*. Presumably the lethal was connected with an inversion between *v* and *car*. If instead a second lethal between *v* and *f* had caused the apparent reduction in crossing-over in this region, this should not have extended into the *ct* *v* region; the presence of a second lethal between *ct* and *v* is ruled out by the viability of *f car* ♂♂. Unfortunately, the line was lost before cytological examination had been carried out. Cytological proof was, however, obtained for the occurrence of a second inversion among the progeny of treated wild-type ♂♂ and *yellow white singed* ♀♀. A ♀, which was tested on account of a slight phenotypical abnormality, turned out to carry a sex-linked semi-lethal near *echinus*, with marked crossing-over inhibition at the left end of the X-chromosome. Cytological analysis by Dr. SLIYNSKA showed an inversion involving the salivary bands 2C to 4D.

c) *Translocations*. In two experiments, treated Or-K ♂♂ were mated to ♀♀ of the genotype *sc*^{sl} *InS* *w*ⁿ *sc*⁸; *dp*; *e* (*scute*^{sl} *Inversion S* *apricot* *scute*⁸; *dumpy*; *ebony*). The X-chromosome in this stock has the same system of inversions as the Muller-5 chromosome and allows a test for sex-linked lethals to be carried out on the F₁ ♀♀. Simultaneously F₁ ♂♂ can be tested for translocations between the second

and third chromosomes by a backcross to *dp*; *e*. ♀♀. The number of translocations to be expected in X-ray experiments producing the same amount of sex-linked lethals was calculated by applying the 3/2 power rule to MULLER's (1940) translocation data. The results are set out in Table 4.

The probability for the difference between observed and expected numbers to be due to chance is less than 0.001. Thus formaldehyde food is much less efficient than X-rays in the production of translocations.

It may even be doubted whether the occurrence of one translocation can be taken as evidence that formaldehyde is at all able to produce translocations. One has to consider the possibility that the treated ♂ from which the translocation was derived had been heterozygous for it. This possibility is, however, small, not only because of the rarity of translocations in laboratory stocks, but also

Table 3. The frequency of large deletions in the progeny of treated Or-K ♂♂ and attached-X *yvf* ♀♀.

Experiment	Brood	Day of treatment	Sex-linked lethals %	No. F ₁ ♀♀ examined	No. deletions	
					observed	expected
FF 4	1	2nd	3.5	1100	3	1—2
FF 4	2	2nd	1.4	1800	1	0—1
FF 9A	1	1rst	8.2	800	2	5
FF 9B	1	1rst	5.5	900	0	3
				4600	6	9—11

Table 4. The frequency of translocations between chromosomes II and III in the progeny of treated ♂♂.

Experiment	Sex-linked lethals %	No. tested spermatozoa	No. translocations	
			observed	expected
FF 9A	8.2	201	0	10
FF 9B	5.5	156	1	4
		357	1	14

because the ♂ in question had had 9 tested sons, only one of which carried the translocation. Since, among the viable progeny of a translocation heterozygote, 50% are expected to carry the translocation, the chance that a ♂ which transmitted a translocation to one out of 9 tested sons was heterozygous for the translocation is $\frac{9}{512} = \frac{1}{57}$ or about 2%, and the chance for the translocation to have arisen *de novo* is about 98%.

Even so, this might have been one of the very rare cases in which a translocation has arisen spontaneously. It was therefore fortunate that confirmation for the ability of formaldehyde food to produce translocations was obtained by the accidental detection of a second translocation in an experiment designed for scoring lethals on the second chromosome. Following the standard procedure, treated ♂♂ were mated to *Cy/L* ♀♀; the F_1 ♂♂ were backcrossed to *Cy/L* ♀♀, and in F_2 the *Cy/+* flies were intercrossed in each culture. In one F_2 culture this could not be done; although the ♂♂ were of the three expected types (*Cy/+*, *L/+*, and *Cy/L*), all ♀♀ were *Cy/L*. Backcrossing of the *Cy/+* ♂♂ to *Cy/L* virgins resulted in a further generation of the same composition, and this was repeated once more with the same result. Obviously, the treated second chromosome in heterozygous condition was lethal for ♀♀, but not for ♂♂. The most likely explanation was that a translocation had taken place by which a part of the second chromosome had been transferred to the Y-chromosome, so that all ♀♀ with the treated second chromosome were deficient for the translocated region. Since *Cy/L* ♂♂, which had the treated Y without the treated second chromosome, were not only viable, but also fertile, the Y must have retained all its fertility factors. This suggested an insertional translocation, with one break in the Y-chromosome and two in the second. Dr. SLIZYNSKA kindly examined the salivary glands of some ♂♂ which genetically were expected to carry the translocation. She found, indeed, a deletion of the second chromosome, extending over more than 50 bands. The missing piece was not, as expected, detectable in the chromocenter; but the genetical evidence makes it clear that at least that portion of it which contained genes necessary for survival must have formed part of the treated Y. A further probable case of translocation will be described in the section on gynandromorphs.

4. Small deficiencies. Frequency of mosaics.

Almost every experiment with formaldehyde medium provided evidence that the treatment can induce small deficiencies. Dominant mutations with lethal action in the homozygote, such as *Notch* and *Minute*, were frequent. The F_1 from crosses between treated wild-type ♂♂ and *w* (white) or *w^a* (apricot) ♀♀ repeatedly contained ♀♀ with white or light-coloured eyes, which on analysis turned out to be heterozygous for a change at the white locus, lethal in hemizygous condition and therefore probably a deficiency. One second-chromosome lethal acted genetically like a deficiency for *dumpy*, and this diagnosis was confirmed cytologically by SLIZYNSKA. Among sex-linked lethals, which are now being analysed by SLIZYNSKA, small deficiencies appear to be at least as frequent, probably more so, than among X-ray lethals.

Many small deficiencies appeared first as mosaics. Thus among 46 *Minutes* in the progeny of treated ♂♂ and attached-X ♀♀, 24 were mosaics. A number of

daughters of treated wild-type ♂♂ and Muller-5 ($sc^{s1} B InS w^a sc^8 = scute^{s1} Bar Inversion S apricot scute^8$) ♀♀ had eyes which were mosaic for the expected wild-type colour and a light shade, caused by a deficiency or mutation at the white locus of the paternal chromosome. The gonads in these cases might be wholly wild-type or wholly mutated, or they might contain both types of cell (gonad mosaics). Some ♀♀ with uniformly light eyes were gonosomic mosaics, i. e. they carried the mutation or deficiency in their eyes, but not in their ovaries.

One case of double or triple mosaicism occurred in a Muller-5 test. An F_2 culture was found to contain Muller-5, but no wild-type ♂♂, and was therefore scored as a sex-linked lethal. The ♀♀ which were heterozygous for the treated X and the Muller-5 chromosome had light eyes, so that the lethal was attributed to a change at the white locus. It was, however, noticed that these ♀♀ fell into two distinct classes differing in the shade of light eye. On breeding, one of these classes of ♀♀ was shown to carry a viable mutation to white, not connected with a cytologically visible abnormality, while the other class carried a large deficiency extending over 38 bands ($2C3=3C6$). The region of the deficiency encloses the white locus, but neither break point is very close to this locus. The F_1 ♀ which produced this culture must have been a gonadic mosaic for two types of aberration in the white region. Unfortunately, her phenotype could no longer be ascertained when this analysis was carried out; but as the F_1 ♀♀ in our Muller-5 tests were always collected under the binocular, it is probable that she had the normally expected red eyes, and thus was a triple mosaic.

For a more accurate estimate of the frequency of mosaics, treated ♂♂ were mated in mass to a succession of *yellow white singed* ♀♀, and the daughters were examined for *Minute* bristles as well as for the uncovering of any of the three recessive marker genes. The results are given in Table 5.

Table 5. *The frequency of complete and fractional small deficiencies or mutations in the progeny of treated Or-K ♂♂ and y w sn ♀♀.*

Brood	No. wild-type ♀♀	No. small deficiencies									
		M		y		w		sn		total	
		epl.	fr.	epl.	fr.	epl.	fr.	epl.	fr.	epl.	fr.
1	6863	16	16	0	0	1	2	0	2	17	20
2	2089	12	12	1	1	0	1	0	1	13	15
3	5544	8	8	1	1	1	1	0	0	10	10
	14496	36	36	2	2	2	4	0	3	40	45

epl. = complete, fr. = fractional mutation.

One of the complete and one of the fractional *white's* were also *Notch*, the other complete *white* was sterile. One of the complete and one of the fractional *yellow's* were also *Minute*, the other complete *yellow* was sterile. These cases were probably due to deficiencies rather than gene mutations; the same is true for the majority of the *Minutes*. One of the ♀♀ scored as a fractional *white* had, in fact, two white eyes; but genetical analysis showed that she was a gonosomic mosaic, carrying the normal allele of *white* in her ovaries.

The ratio of complete to fractional deficiencies or mutations is exactly 1:1 for the *Minutes* only, and $40:45 = 1:1.1$ for all types together.

Although, as always after treatment of young larvae, the total frequency of aberrations was significantly lower in the third brood (0.3%) than in the first two (0.7%), the ratio of complete to fractional mutations remained unchanged. This is to be expected if, as seems very probable, the differences in mutation rate between broods are due, not to difference in the developmental stage at which the mutations were produced, but to differences in the frequency with which cells of one and the same sensitive stage are represented in successive broods (AUERBACH and MOSER, 1953).

5. Visible mutations.

No special effort was made to detect visible sex-linked mutations in the F_2 of Muller-5 tests; but the more obvious ones were noted and scored. If only mutations without marked effect on viability are counted, a total of 35 was found in about 24,600 F_2 cultures, which together contained 1064 sex-linked lethals. The following phenotypes occurred: 10 *rudimentary*, 9 *miniature*, 4 *white*, 3 *outstretched*, 2 *yellow*, 2 *fused*, 1 *furrowed*, 1 *wavy*, 1 *forked*, 1 *prune*, 1 with variable wing shape. Some of the mutants were tested genetically and found to be allelomorphous with the mutations whose presence they suggested. Two of the *miniature's* occurred in F_1 ♀♀ which were gonadic mosaics for them, carrying the mutation in some of their ova, and the normal allelomorph in the remainder.

For a more accurate estimate of the rate at which visible mutations appear in the progeny of formalin-fed ♂♂, treated ♂♂ were mated to attached-X ♀♀, and the F_1 ♂♂ were examined carefully for visible mutations. As an estimate of the genetically effective dose, Muller-5 tests were carried out on aliquots of the treated ♂♂. The results of the Muller-5 tests were used for estimating the number of sex-linked lethals which would have been expected in the main tests, i. e. the number of sons of attached-X ♀♀ which must have been missing because of sex-linked lethals. This allows a rough estimate of the ratio between lethal and visible recessives on the X-chromosome. Since lethals which appear first as fractionals will not be detected in Muller-5 tests, visible fractionals had likewise to be omitted from the comparison. The data from three such experiments are summarized in Table 6. In one experiment, two successive broods with different frequencies of sex-linked lethals were reared, and these were treated like independent experiments.

Table 6. *The frequency of sex-linked visible mutations in the progeny of treated ♂♂ and attached-X ♀♀.*

Experiment	Brood	Lethals in M-5 test %	No. F_1 ♂♂ examined	Expected No. F_1 ♂♂ with lethal	No. sex-linked visibles		Ratio lethals: cpl. visibles
					cpl.	fr.	
FF 4	1	3.5	1100	40	0	0	at least 41:1
	2	2.1	1800	39	1	2	
FF 9A	1	8.2	800	72	2	0	39:1
FF 9B	1	5.5	900	52	2	1	36:1
			4600	203	5	3	aapr. 40:1

cpl. = complete, fr. = fractional mutation.

The five complete mutations, classified by phenotype, were: *garnet* or *carnation*, *vermilion*, *miniature*, *yellow*, and *forked* or *singed*. For the *yellow* ♂, no genetical test was considered necessary. *Miniature* was shown to be identical or allelomorphous with *m*. The bristle abnormality bred as sex-linked recessive; tests to distinguish between *sn* or *f* were not done. For the two eye colour mutations, sex-linked inheritance could not be established, because the ♂♂ died without leaving progeny. Of the three fractional aberrants, one was mosaic for a sex-linked mutation to *forked* or *singed*, present in the testis. The second mutation was phenotypically like *garnet* or *carnation*, but did not involve the testis. The third was a phenotypical mosaic for the same colour. In addition, there were *Minutes*, *Notch*, and other dominant abnormalities; these have not been included in the table. Although in these experiments a special effort was made to detect all visible sex-linked recessives, their frequency in relation to the estimated lethal frequency was only 1:40, i. e. even lower than that of the accidentally discovered visibles in Muller-5 tests (about 1:30).

6. Gynandromorphs.

Gynandromorphs were scored in the progeny of treated wild-type ♂♂ and *yellow white singed* ♀♀. With a dose giving about 4% sex-linked lethals, 11 gynandromorphs for the treated chromosome were found in 14,500 female progeny, a proportion near 1 in 1000. One fly was *yellow singed* and intersexual in thorax and abdomen, while the head was normal in colour and in shape of bristles and had rough red eyes. The most likely explanation is that the treated spermatozoon had carried a translocation by which a piece of the X-chromosome, not carrying the normal alleles of *yellow* and *singed*, had been inserted into some other chromosome. Loss of the X-chromosome would then result in a region which was hyperploid for the translocated part of the X.

Discussion.

The results reported here show that formaldehyde food produces all the main genetical effects found after X-ray treatment: lethal and viable point mutations, dominant lethals, small and large deletions, inversions, translocations, and gynandromorphs. It differs from X-rays in two features: the shortage of translocations relative to lethals, and the high frequency of mosaics in the F_1 of treated ♂♂. Superficially, these features approximate the effects of formaldehyde food to those of mustard gas and suggest a common mode of action. However, it must be remembered that formaldehyde food, in contrast to mustard gas, produces its genetical effects not in mature spermatozoa, but during the interphase before meiosis. This puts a different complexion on its peculiarities.

Mosaicism in the F_1 of ♂♂ whose germ cells have been treated before meiosis must be due to mutagenic delay through meiosis into early cleavage. Thus, our finding that 50% of all visible aberrations occurred first as mosaics shows that formaldehyde food, like mustard gas, may produce delayed effects. It seems that there was a fair amount of mosaicism also in RAPOPORT's experiments. He mentions specifically the unusually high number of semi-lethals without visible effect which occurred in his CIB tests. It is probable that many of these

apparent semi-lethals were in reality gonadic mosaics for a full lethal of the kind found in our Muller-5 tests.

Gynandromorphs, too, must arise through delayed effect when the treatment is given to premeiotic cells. X-rays, which do not have the same kind of delayed effect as chemical mutagens, do not produce gynandromorphs when applied to spermatogonia (LÜNING 1952). In the progeny of formaldehyde treated ♂♂, gynandromorphs were frequent. About 0.1% occurred after a treatment which yielded 4% sex-linked lethals and thus was mutagenically equivalent to about 1500 r units. PATTERSON (1931) obtained about the same frequency of gynandromorphs after irradiation with 4000 r units of X-rays. More recently, BONNIER and LÜNING (1949) obtained 0.009% with 1454 r and, in a newer series (1951), 0.07% with 2400 r. If the high efficiency of formaldehyde in producing gynandromorphs is attributed to its delayed action, one would expect a similarly high frequency of gynandromorphs after mustard gas treatment. In an earlier paper one of us (AUERBACH 1946) has stated that gynandromorphs did not appear to be more frequent in the progeny of mustard gas treated than of X-rayed ♂♂. However, this statement was not based on sufficient data to allow a valid comparison between X-rays, mustard gas, and formaldehyde food in this respect. LÜNING (1951) has reported the occurrence of gynandromorphs in the progeny of mustard gas treated ♂♂ and ♀♀; but as no parallel tests for sex-linked lethals were carried out, a quantitative comparison of his results with ours is not possible.

The double—or triple—mosaic which occurred in one of our Muller-5 tests shows that also a large deletion can arise through delayed effect. This is of some interest, because the origin of large re-arrangements through mutagenic delay had not been satisfactorily proved for mustard gas. Like similar multiple mosaics obtained after mustard gas treatment (AUERBACH 1950), this case is of special interest because it shows that the same treated germ cell may, in the F_1 , give origin to two—or three—different versions of the treated X-chromosome. In contrast to the mustard gas cases, neither break point of the deletion present in one part of the gonad was very close to the mutation present in the other part; this makes it less likely that the mutation had arisen as a position effect of a restituted break.

Altogether, there can be no doubt that mutagenic delay is a common feature of mutagenesis by formaldehyde food and by mustard gas. Conceivably, it may trace back to some common property of their mode of action. The same conclusion cannot, without further evidence, be drawn for the shortage of translocations found after both types of treatment. It is a well known fact that structural changes are comparatively rare in interphase nuclei (see e. g. METZ 1947, SPARROW 1951), which alone respond to treatment by formaldehyde food. Moreover, translocations which are produced before meiosis, stand a good chance of being lost by segregation. If, as has been suggested in the first paper of this series, formaldehyde food acts by interfering with chromosome synthesis, it would produce chromatid rather than chromosome translocations. This would increase the probability of their elimination; for a chromosome translocation which has survived the first meiotic division will be preserved, whilst a chromatid translocation produced in the interphase before meiosis may be lost at either the first

or second meiotic division. A valid comparison between the frequencies of translocations induced by X-rays on the one hand and formaldehyde food on the other would have to be based on translocation frequencies after irradiation of the pre-meiotic interphase, and for this no data are available. However, it is well known that translocations are rare in late broods from irradiated ♂♂, when treated premeiotic germ cells are being sampled (SHAPIRO and NEUHAUS 1933, CATSCH and RADU 1943). Large deletions, which do not run the same risk of elimination in meiosis as translocations, were not significantly rarer in the progeny of ♂♂ treated with formaldehyde food than of irradiated ♂♂. There is, thus, no good evidence that the shortage of translocations after treatment with formaldehyde food or mustard gas are comparable phenomena.

Although true dominant lethality undoubtedly is produced by formaldehyde food, much of the reduction in hatchability of eggs from treated fathers and untreated mothers is probably due to other, non-genetical factors. It is well to keep this possibility in mind when dealing with other mutagens, especially those administered to developing organismus. It is probably no accident that the clearest example of spurious „dominant lethality“ without concomitant genetical effect is provided by BHATTACHARYA's (1949) experiments, in which ethylene glycol was fed to *Drosophila* larvae.

Our data give no evidence of a specific effect of formaldehyde food on chromosome regions or gene loci. The ratio between the frequencies of lethals on the first and second chromosome corresponded to the genetic lengths of these two chromosomes. Those sex-linked lethals which have been located show a random distribution, which does not, however, exclude the possibility that subtler peculiarities may be found in more extended location work. Visible mutations which occurred repeatedly, such as *miniature* and *rudimentary*, are relatively frequent also in experiments with mustard gas or X-rays.

There is an indication that visible, fully viable mutations may be comparatively rare after treatment with formaldehyde food. RAPOPORT (1947) was so struck by the scarcity of visible mutations in his experiments that he used it as starting-point for an elaborate hypothesis, according to which the gene contains a special L (= lethal) component, chemically a histone, which reacts preferentially with formaldehyde. On closer analysis, however, the significance of the scarcity of visibles becomes doubtful. RAPOPORT gives no data for visible mutations. In our experiments about 30—40 times as many lethals as fully viable sex-linked mutations were obtained. This is considerably higher than the ratio of about 8 lethals to 1 visible which TIMOFÉEFF-RESSOVSKY and DELBRÜCK (1936) found in ClB tests in which both lethals and visibles on the X-chromosome were scored. However, data on visible mutations are notoriously subject to great variations, caused by differences in culture conditions, which affect viability, and by the personal factor in detection and scoring. TIMOFÉEFF and DELBRÜCK did their experiments with the explicit purpose of detecting visible mutations, whilst in our Muller-5 tests only those visibles were scored which obtruded themselves on our attention. It is true that in the progeny of attached-X ♀♀ we scrutinized every ♂ carefully; but here the data are insufficient for statistical evaluation. Moreover, in attached-X tests the number of visibles depends

much more on survival than in CIB tests; this tends to lower the frequency of visibles detected by the attached-X method. In the experiments by TIMOFÉEFF-RESSOVSKY and DELBRÜCK, half as many visibles were found by the attached-X as by the CIB method. Altogether, then, we do not feel that our data prove a relative paucity of visible mutations after formaldehyde feeding, let alone that they justify a hypothesis of gene action based on such paucity. If the ratio of lethals to visibles should indeed be higher after formaldehyde feeding than after X-radiation, this might be caused by a relatively higher proportion of small deficiencies among formaldehyde induced mutations. Alternatively, formaldehyde might tend to produce clusters of mutations in the same chromosome or chromosome region, so that some visibles would become masked through the presence of a linked lethal. Both these possibilities are now being tested in collaboration with SLIZYNSKA.

The bulk of our results stands in sharp contrast to those by RAPOPORT (1947), who obtained neither dominant lethals nor small and large re-arrangements in his experiments. This led him to the conclusion that formaldehyde, although able to produce gene mutations, cannot break the chromosomes, a conclusion which plays an important rôle in his theory of formaldehyde action, but which is disproved by the present findings. Several reasons for this discrepancy between our results and RAPOPORT's come to mind. First of all, RAPOPORT, being unaware that female larvae are insensitive to the mutagenic action of formaldehyde, used ♀♀ for about half of his experiments. Secondly, he did not know of the very limited zone of sensitivity in the larval testis and therefore probably included in his tests spermatozoa from cells treated during a non-responsive stage. Finally, he seems to have relied on formaldehyde concentration as a measure of the genetical effectiveness of the treatment and did not, therefore, think it necessary to determine the mutagenic efficiency of each treatment by a parallel test for sex-linked lethals. This neglects the fact, to be discussed in the third paper of this series, that slight changes in incidental conditions, notably the type of food medium and the degree of crowding during treatment, may profoundly alter the effectiveness of a given concentration of formaldehyde. It is thus possible that not all his treatments for the production of chromosomal effects were mutagenically as efficient as the concentration of formaldehyde led him to expect. While these reasons are sufficient to explain RAPOPORT's failure to obtain re-arrangements, the absence of "dominant lethals" in his experiments remains a problem. Granted even that the genetical component of the sterility of treated ♂♂ was missed for the same reasons for which re-arrangements were missed, there still remains the non-genetical, developmental component, which in our experiments was especially marked for treatments of high toxicity and low mutagenicity. Now RAPOPORT's treatments seem to have been just of this type; for survival rates are described as low, development as greatly prolonged, and the surviving flies as small and weak; on the other hand the concentration of formaldehyde producing a given frequency of sex-linked lethals in his experiments was much above that required in ours. One would therefore expect a marked depression in the fertility of the surviving ♂♂; but while a few seem to have been completely sterile, the remainder had normal fertility. Whatever

the cause for this particular discrepancy, it is obvious that a careful study of the conditions under which a chemical mutagen is effective, in particular a study of sensitive cell types, is an indispensable prerequisite for an analysis of its action.

A different method for the production of mutations by formaldehyde consists of injections into adult *Drosophila* ♂♂ (AUERBACH 1952, SOBELS unpub.). Since it is not known whether these two methods produce their effects by the same mechanism (AUERBACH 1953), the results reported here cannot, without further evidence, be extended to mutagenesis by formaldehyde injection.

Acknowledgment.

It is a pleasure to acknowledge the valuable help which we have received from Dr. SLIZYNSKA throughout the course of this work.

Summary.

1. Formaldehyde in the food of male *Drosophila* larvae induces recessive and dominant lethals, visible mutations, large re-arrangements, small deficiencies, and gynandromorphs.

2. Reduced hatchability in the progeny of treated ♂♂ is only partly due to true dominant lethality, i. e. zygotic lethality. Developmental disturbances in the testes contribute to it.

3. Mosaics of all kinds are frequent in the progeny of treated ♂♂. Since formaldehyde food acts before meiosis, mosaicism is a proof for delayed effect. There was one case of mosaicism for a large deletion. It occurred in a double or triple mosaic, in which one part of the ovary contained a deletion of the *white* region, while the other contained a viable mutation to *white* without cytologically visible abnormality. Neither break point was very close to *white*.

4. Gynandromorphs were considerably more frequent than in X-ray experiments with mutagenically equivalent doses. Gynandromorphs, too, must have arisen through delayed effect.

5. Large deletions were slightly, but not significantly less frequent than in X-ray experiments with mutagenically equivalent doses. Translocations were very much rarer than expected on an X-ray basis. This has been attributed mainly to the fact that formaldehyde food acts on premeiotic cells. It is thus doubtful whether the shortage of translocations after mustard gas and after formaldehyde food are comparable phenomena.

6. There was no evidence for specific action on chromosome regions or gene loci.

7. Visible mutations with full viability seem to be somewhat rarer than in corresponding X-ray experiments; but much larger data, collected by the same observer, would be required to establish this point beyond doubt.

8. Most of our findings stand in sharp contrast to a paper by RAPOPORT on the action of formaldehyde food. An analysis of the reasons for this discrepancy emphasizes the necessity of studying the conditions under which a chemical mutagen acts, in particular differences in response between stages of germ cell development, before undertaking an analysis of its action.

Zusammenfassung.

1. Zusatz von Formaldehyd zum Futter von männlichen *Drosophila*-Larven induziert rezessive und dominante Letalfaktoren, sichtbare Mutationen, Chromosomenmutationen, kleine Stückverluste und Gynandromorphismus.

2. Die verringerte Schlüpfrate in der Nachkommenschaft behandelter Männchen ist nur teilweise verursacht durch echte dominante, d. h. zygotische Letalität. Entwicklungsstörungen im Hoden tragen zu der beobachteten Sterilität bei.

3. Mosaiken aller Art treten häufig in der Nachkommenschaft behandelter Männchen auf. Da Formaldehyd-Futter auf prämeiotische Stadien wirkt, können diese Mosaik als ein Beweis für eine Nachwirkung der Behandlung angesehen werden. Auch eine Chromosomenmutation trat zuerst als Mosaik auf. Es handelte sich um ein zweifaches oder gar dreifaches Mosaik, in dem ein Teil des Ovars eine Deletion der *white*-Region enthielt, während sich in dem übrigen Ovar eine lebensfähige Mutation zu *white* vorfand, die mit keiner sichtbaren zytologischen Abnormalität verbunden war. Keiner der beiden Brüche war dicht bei dem *white*-Locus.

4. Gynandromorphe waren häufiger als in Experimenten mit mutagenisch äquivalenten Dosen von Röntgenstrahlen. Auch Gynandromorphe müssen als Resultat einer Nachwirkung aufgefaßt werden.

5. Große Stückverluste waren zwar etwas weniger häufig als in Experimenten mit mutagenisch äquivalenten Dosen von Röntgenstrahlen, aber der Unterschied war statistisch nicht gesichert. Translokationen hingegen waren sehr viel weniger häufig als in entsprechenden Experimenten mit Röntgenstrahlen. Als Hauptursache hierfür wird die Tatsache angesehen, daß Formaldehyd-Futter auf prämeiotische Stadien wirkt. Es ist daher zweifelhaft, ob man die Seltenheit von Translokationen nach Behandlung mit Senfgas und mit Formaldehyd-Futter als wesensgleiche Phänomene ansehen kann.

6. Es fand sich kein Hinweis auf eine spezifische Wirkung der Behandlung auf bestimmte Gene oder Chromosomenabschnitte.

7. Sichtbare, voll lebensfähige Mutationen scheinen etwas seltener vorzukommen als in entsprechenden Experimenten mit Röntgenstrahlen; aber ohne weitere umfangreiche Daten, von ein und demselben Beobachter gesammelt, kann dieser Punkt nicht als gesichert angesehen werden.

8. Die meisten unserer Ergebnisse stehen in scharfem Gegensatz zu einer Publikation von RAPOPORT. Eine Analyse der Gründe für diesen Widerspruch führt zu dem Schluß, daß ein Studium der Bedingungen, unter denen ein chemisches Mutagen wirkt, insbesondere eventueller sensitiver Stadien in der Entwicklung der Keimzellen, unerlässlich für eine Analyse mutagener Wirkungen ist.

Literature cited.

- AUERBACH, C.: Chemically induced mosaicism in *Drosophila melanogaster*. Proc. Roy. Soc. Edinburgh, Sect. B **62**, 211 (1946). — Differences between effects of chemical and physical mutagens. Pubbl. Staz. zool. Napoli **22**, Suppl., 1 (1950). — Some recent results with chemical mutagens. Hereditas (Lund) **37**, 1 (1951a). — Problems in chemical mutagenesis. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **16**, 199 (1951b). — Mutation tests on *Drosophila melanogaster* with aqueous solutions of formaldehyde. Amer. Naturalist **86**, 330 (1952). — Sensitivity of *Drosophila* germ cells to mutagens. Heredity (Lond.) **6**, Suppl., 247 (1953). — AUERBACH, C., and H. MOSER: Analysis of the mutagenic action of formaldehyde food.

I. Sensitivity of *Drosophila* germ cells. Z. Vererbungslehre **85**, 479 (1953). — BHATTACHARYA, S.: Tests for a possible action of ethylene glycol on the chromosomes of *Drosophila melanogaster*. Proc. Roy. Soc. Edinburgh, Sect. B **63**, 242 (1949). — BISHOP, M.: X-chromosome duplications in *Drosophila melanogaster*. Genetics **38**, 140 (1938). — BONNIER, G., and K. H. LÜNING: Studies on X-ray mutations in the white and forked loci of *Drosophila melanogaster*. I. A statistical analysis of mutation frequencies. Hereditas (Lund) **35**, 163 (1949). — Spontaneous and X-ray induced gynandromorphs in *Drosophila melanogaster*. Hereditas (Lund) **37**, 469 (1951). — CATSCH, A., and GH. RADU: Über die Abhängigkeit der röntgeninduzierten Translokationsrate vom Reifezustand der bestrahlten Gameten bei *Drosophila melanogaster*-Männchen. Naturwiss. **31**, 368 (1943). — LÜNING, K. G.: Mustard gas and gynandromorph production in *Drosophila melanogaster*. Hereditas (Lund) **37**, 488 (1951). — X-ray induced chromosome breaks in *Drosophila melanogaster*. Hereditas (Lund) **38**, 321 (1952). — METZ, C. W.: Chromosome sensitivity to X-radiation in oocytes of *Sciara*. Anat. Rec. **99**, 582 (1947). — MÜLLER, H. J.: An analysis of the process of structural change in chromosomes of *Drosophila*. J. Genet. **40**, 1 (1940). — PATTERSON, J. T.: The production of gynandromorphs in *Drosophila melanogaster* by X-rays. J. of Exper. Zool. **60**, 173 (1931). — PONTECORVO, G.: Researches on the mechanism of induced chromosome re-arrangements in *Drosophila melanogaster*. Ph. D. Thesis, Univ. Edinburgh 1940. — RAPOPORT, I. A.: Chemical reaction with the amino groups of the gene proteins. (Russian with English summary). J. Gen. Biol. **8**, 359 (1947). — SHAPIRO, N. J., i M. J. NEUHAUS: Comparative analysis of the mutation processes in the male and female *Drosophila melanogaster*. (Russian.) Biol. Ž. (Moscow) **2**, 425 (1933). — SPARROW, A. H.: Relative sensitivity of cells during mitotic and meiotic cycles with emphasis on possible cytochemical changes. Ann. New York Acad. Sci. **51**, 1508 (1951). — TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W., and M. DELBRÜCK: Strahlengenetische Versuche über sichtbare Mutationen und die Mutabilität einzelner Gene bei *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre **71**, 322 (1936).

Dr. CHARLOTTE AUERBACH, Institute of Animal Genetics,
Kings Buildings, West Mains Road, Edinburgh (Schottland).

Institute of Animal Genetics, Edinburgh, Scotland.

THE SEX DISTRIBUTION OF *WAVED-2*, *SHAKER-2* AND *REX* IN THE HOUSE MOUSE.

By

T. C. CARTER* and RITA J. S. PHILLIPS*.

(Eingegangen am 14. September 1953.)

Introduction.

The seventh linkage group of *Mus musculus* was first discovered by SNELL and LAW (1939); they found about 26% recombination between *waved-2* (*wa-2*) and *shaker-2* (*sh-2*), two mutants which affect, respectively, coat-texture and behaviour. FALCONER (1947) added to the group another coat-texture mutant, *Rex* (*Re*); he reported about 20% recombination between *Re* and *sh-2*, and about 41% between *Re* and *wa-2*. The gene order was thus *Re*, *sh-2*, *wa-2*.

Later the same year M. E. WRIGHT (1947) reported anomalous sex-distribution in the progeny of males heterozygous for *wa-2* and *sh-2*, and attributed it to partial sex-linkage. Her data shewed two unusual features, however, namely (i) both sex-recombinations were of the same intensity, though *wa-2* and *sh-2* are not closely linked; and (ii) they exceeded 50%, being about 56% in each case. WRIGHT used a factorial experimental design, which should have precluded bias due to viability differences between the classes of segregants; and the statistical significance of her results is beyond question. Further data on the segregation of *wa-2* and *sh-2*, due to G. D. SNELL, were quoted by FISHER, LYON and OWEN (1947); they were consistent with WRIGHT's results, though not of themselves sufficient to demonstrate recombination significantly exceeding 50%. FISHER, LYON and OWEN also gave some data on the sex-recombination of *Re*, culled from the records of experiments made for other purposes: the indicated recombination percentage, 51%, did not shew any significant departure from free segregation.

Recombination exceeding 50% is a theoretical possibility in a genetically long chromosome, provided that chromatid interference is present and is such that pairs of adjacent chiasmata involving all four chromatids are more common than those involving only two. Nevertheless, the partial sex-linkage interpretation of WRIGHT's data has not been universally accepted (see, e.g., GRÜNEBERG 1952), partly because of the absence of any apparent sex-linkage of *Re*.

A few years ago it became essential, as an ancillary to experiments with translocations then being planned, to obtain further evidence on this question. The breeding records at EDINBURGH were therefore scanned for information on the sex-recombination of Group VII markers. None was available for *wa-2* and *sh-2*; but for *Re* there were records of over 1500 mice, and these shewed $53.0 \pm 1.3\%$ recombination (Table 1A-D). Coupling and repulsion were ill-balanced, however,

* Member of the Scientific Staff, Medical Research Council.

so this estimate was open to bias; as evidence for partial sex-linkage it is therefore not necessarily as significant as the figures appear to suggest.

In the absence of decisive evidence it became necessary to undertake experiments with the specific object of testing Linkage Group VII markers for partial sex-linkage. Three independent experiments were undertaken, in each of which two of the three markers *wa-2*, *sh-2* and *Re* segregated. Each experiment was on the same scale as WRIGHT's, and each used the same balanced, factorial design as hers: the experiment with *wa-2* and *sh-2* was, in fact, a repeat of hers. In this way two independent estimates were obtained of the sex-recombination of each of the three markers.

Meanwhile an attempt was made to assess the extent to which differential viability might have biased the estimate of the sex-recombination of *Re*. In the mouse, as in all mammals, sex segregates in the male, and therefore partial sex-linkage could not manifest in the progeny of females heterozygous for *Re*; it follows that any inequalities between the four classes of their progeny must be due to other causes, e.g. differential viability. These departures could therefore be used to estimate viability corrections to be applied to the segregation data from heterozygous males. A search of the records yielded information about more than 1100 progeny of heterozygous females.

The male segregation data had, of course, been divided into coupling and repulsion. For some reason which is now obscure the female segregation data were likewise divided according as the heterozygous female received *Re* from her father or her mother: the numbers of progeny from the two types of female were reasonably well balanced. A remarkable effect then came to light, namely that the female segregation data shewed sex-linkage-like inequalities in their progeny class-sizes; these inequalities were of opposite senses for the two types of female. The effect was statistically significant (Table 5A-D).

The records were thereupon searched for information on the sex-distribution of the progeny of females heterozygous for *wa-2* and *sh-2*. The numbers from the two types of female were very unequal, but together they totalled over 1300: sex-linkage-like inequalities were present here also, and were even more strongly marked than in the *Rex* data (Table 6A-E).

This suggested that "pseudo-sex-linkage" was probably a real effect, and not merely a matter of chance distribution. If so, it had an important bearing on the question whether or not Group VII is partially sex-linked; for the sex-linkage hypothesis requires not only that linkage shall be shewn by segregating males, but also that it shall not be shewn by segregating females. If pseudo-sex-linkage really is present in females, then true sex-linkage must not be postulated to explain like observations in males.

Two further experiments were therefore undertaken, to test segregating females for pseudo-sex-linkage. The same factorial design was used as before. One experiment was a further repeat of WRIGHT's, save that *wa-2* and *sh-2* now segregated in the female parent. In the other experiment *Re* and *Ta* segregated in the female parent. *Ta*, *Tabby*, is a fully sex-linked marker (FALCONER 1952): this experiment therefore tested *Re* not only for pseudo-linkage with sex, but also for true sex-linkage (with *Ta*).

It will be seen that none of the experiments gave consistent evidence of true sex-linkage; but the female segregation experiments both gave some evidence of pseudo-sex-linkage.

Experimental Design.

The plan adopted for all the experiments was the balanced backcross, as used by WRIGHT (1947), following FISHER and MATHER (1936); its object is to provide unbiased estimates of the recombination fractions by arranging that errors introduced in the coupling phase, through reduced viability of some classes of progeny or other causes, shall be balanced by equal and opposite errors introduced in repulsion. In an experiment with three factors, e.g. *wa-2*, *sh-2* and sex, this involves breeding from all four possible phase types of triple heterozygote, viz. $++\delta/wa\delta$ ♀, $wa++\delta/sh$ ♀, $wa\delta++\delta$ ♀ and $++sh/wa++$ ♀. Successful elimination of bias requires that (i) the experiment shall be homogeneous, viability differentials in one phase being of the same magnitude as the corresponding differentials in the opposite phase; and (ii) the same primary number of zygotes shall be obtained from each type of heterozygote. Provided that these conditions are met, an unbiased estimate of the recombination fraction is still obtained even when some of the classes of progeny are missing. Misclassification, however, even if homogeneous, will usually introduce bias.

Methods of Analysis.

Four statistical tests were applied to the data from each experiment. The first two were to see to what extent the necessary conditions for eliminating bias were satisfied; the other two were analyses of the recombinations.

(i) *Single factor segregation test.* For each heterozygote type the single factor segregations were tested for departure from a 1-to-1 ratio; homogeneity of heterozygote types was tested by the $2 \times n$ -table method.

(ii) *Test of equality of complementary genotypes.* This test is intended to detect any serious viability differences. Complementary classes of zygote, e.g. $++$ ♀ and $wa\delta$ ♂, will normally be formed in equal numbers; in the absence of viability differentials the numbers in complementary classes should therefore remain equal. They were tested by χ^2 for departure from a 1-to-1 ratio. For a joint test χ^2 was summed over the four pairs of classes to give χ^2 with four degrees of freedom.

(iii) *Two factor segregations.* Recombinants and non-recombinants were tested for departure from a 1-to-1 ratio (for sex recombination) or from the ratio estimated from the totals (for linked pairs); homogeneity of heterozygote types was tested by the $2 \times n$ -table method.

(iv) *Three factor segregations; test for sex-linkage.* This test was used by WRIGHT (1947). Consider, for example, the linked pair *wa-2* and *sh-2*; they are to be tested jointly for linkage with sex. Assume *ex hypothesi* that sex-linkage exists and that the gene order is *wa-2*, *sh-2*, sex. Suppose that recombination of *wa-2* with *sh-2* has frequency p , and recombination of *sh-2* with sex has frequency q ; and suppose that there is genetic interference, such that the fre-

quency of simultaneous recombination of *sh-2* with both *wa-2* and sex is reduced by an amount ε from the value pq expected in the absence of interference. Expected frequencies can then be written down (in terms of p , q and ε) for the non-recombinant gametes and for the recombinants in which *wa-2*, *sh-2* or sex, respectively, have crossed over. For example, the heterozygote $++\beta/wash$ ♀ gives:

Crossover type	Classes	Frequency
Non-recombinant	$++\delta$ & $wash\delta$	$a = (1-p)(1-q) - \varepsilon$
Sex	$++\delta$ & $wash\delta$	$b = (1-p)q + \varepsilon$
<i>sh-2</i>	$+sh\delta$ & $wa+$ ♀	$c = pq - \varepsilon$
<i>wa-2</i>	$wa+$ ♂ & $+sh$ ♀	$d = p(1-q) + \varepsilon$

If *wa-2* and *sh-2* are not linked to sex, then $q = \frac{1}{2}$ and $\varepsilon = 0$, and the class frequencies become $a = b = \frac{1}{2}(1-p)$ and $c = d = \frac{1}{2}p$; these are the usual expressions for the two-factor linkage of *wa-2* with *sh-2*. Significant inequality of a with b , or of c with d , therefore constitutes evidence that sex is not independent of *wa-2* and *sh-2*.

In WRIGHT's experiment c and d were equal (though a and b unequal). This requires that

$$pq - \varepsilon = p(1-q) + \varepsilon$$

i.e. $\varepsilon = \frac{1}{2}p(2q-1)$

For ε to be positive, i.e. if there is to be genetical interference in the normal sense, $(2q-1)$ must be positive, or $q > \frac{1}{2}$.

When, on the other hand, a and b are equal (c and d being unequal), it follows that

$$(1-p)(1-q) - \varepsilon = (1-p)q + \varepsilon$$

i.e. $\varepsilon = \frac{1}{2}(1-p)(1-2q)$

For ε to be positive this requires that $q < \frac{1}{2}$

Can $a = b$ and $c = d$ in the presence of partial sex linkage? This requires that

$$\frac{1}{2}p(2q-1) = \frac{1}{2}(1-p)(1-2q)$$

This condition is satisfied only by $q = \frac{1}{2}$ and $\varepsilon = 0$: in other words, the locus of sex must be so remote from that of *sh-2* that they segregate independently.

Similar results are obtained if the order is assumed to be *sh-2*, *wa-2*, sex.

Applied to experimental results, the test therefore consists of summing corresponding crossover types for all types of heterozygote, then testing the equality of a with b and c with d .

Stocks.

The stock of *Re* used was founded by a mouse from Sir RONALD FISHER's stocks received in 1947. *wa-2* and *sh-2* were introduced by a mouse obtained from Dr. D. S. FALCONER, also in 1947; he had obtained the stock a few months earlier from Sir RONALD FISHER. The stocks used in the present work were therefore closely related to those referred to by WRIGHT (1947) and by FISHER, LYON and OWEN (1947).

Classification of the phenotypes *Re*, *Rewa-2* and *wa-2* was based on the criteria given by CARTER (1951). Classification of *sh-2* was delayed until about the age of weaning and was based on the onset of deafness as well as head movements. *Ta* could not be classified with confidence in *Re* females, so the *Re+Ta+* and *Re+++* classes were lumped. Other classifications presented no difficulties.

Results.

Tables 1A, 5A and 6A give the segregation data, culled from the records at EDINBURGH, of mice which were bred for various purposes unconnected with these experiments. Tables 2A, 3A, 4A, 7A and 8A give the segregation data obtained in the factorial experiments. Following each table A, tables B, C, D and (where present) E and F give the results of the statistical tests.

(i) *Re* segregating in males. (Unbalanced data.) (Tables 1A—D.) Single-factor segregations are Mendelian and homogeneous. There is some evidence of

Table 1A. *Segregation of *Re* and sex in males**.

Genotype of father	Phenotypes of progeny				
	<i>Re</i> ♀	<i>Re</i> ♂	+ ♀	+ ♂	Total
<i>Re</i> ♂/+ ♀ ∴	322	287	286	298	1193
+ ♂/ <i>Re</i> ♀ ∴	77	116	83	75	351
Totals	399	403	369	373	1544

* These are the data, then unpublished, referred to by MICHIE (1952).

Table 1B. *Single factor segregations; analysis of χ^2 .*

	<i>Re</i> and +			♂ and ♀		
	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P
Deviation	2.332	1	>0.1	0.041	1	>0.8
Heterogeneity . .	1.682	1	>0.1	3.140	1	>0.05

Table 1C. *Equality of complementary genotypes; analysis of χ^2 .*

χ^2	DF	P
2.373	2	>0.3

Table 1D. *Two factor segregations; analysis of χ^2 .*

	<i>Re</i> and ♂		
	χ^2	DF	P
Deviation	5.723	1	<0.02
Heterogeneity . .	2.422	1	>0.1
Recombination .	53.04 ± 1.27%		

sex-linkage of *Re*, with recombination exceeding 50%; it is significant at the 5% but not the 1% probability level.

(ii) *Re* and *sh-2* segregating in males. (Tables 2A–E.) Single-factor segregations are Mendelian and homogeneous. There is no evidence of sex-linkage of either *Re* or *sh-2*.

(iii) *Re* and *wa-2* segregating in males. (Tables 3A–E.) Single factor segregations are Mendelian and homogeneous. There is no evidence of sex-linkage of either *Re* or *wa-2*.

Table 2A. Segregation of *Rex*, *shaker-2* and sex in males.

Genotype of father	Phenotypes of progeny								Total
	<i>Re</i> + ♀	<i>Re</i> + ♂	<i>Resh</i> ♀	<i>Resh</i> ♂	++ ♀	++ ♂	+ <i>sh</i> ♀	+ <i>sh</i> ♂	
<i>Re</i> +♂/+ <i>sh</i> ♀ . .	15	28	6	6	4	5	16	25	105
++♂/ <i>Resh</i> ♀ . .	4	8	16	25	24	19	5	4	105
+ <i>sh</i> ♂/ <i>Re</i> +♀ . .	19	22	5	8	2	8	22	18	104
<i>Resh</i> ♂/++♀ . .	0	2	20	21	25	20	7	6	101
Totals	38	60	47	60	55	52	50	53	415

Table 2B. Single factor segregations; analysis of χ^2 .

	<i>Re</i> and +			+ and <i>sh-2</i>			♂ and ♀		
	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P
Deviation . .	0.060	1	>0.8	0.060	1	>0.8	2.952	1	>0.05
Heterogeneity	2.569	3	>0.3	0.711	3	>0.9	3.257	3	>0.3

Table 2C. Equality of complementary genotypes; analysis of χ^2 .

χ^2	DF	P
3.851	4	>0.3

Table 2D. Two factor segregations; analysis of χ^2 .

	<i>Re</i> and ♂			♂ and <i>sh-2</i>			<i>Re</i> and <i>sh-2</i>		
	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P	χ^{2*}	DF	P
Deviation . . .	0.292	1	>0.5	0.292	1	>0.5	0.135	1	>0.9
Heterogeneity .	4.188	3	>0.2	1.768	3	>0.5	1.829	3	>0.5
Recombination	51.33 ± 2.45%			51.33 ± 2.45%			19.28 ± 1.94%		

* Expected values based on 20% recombination.

Table 2E. Three factor segregations; sex-linkage test.

Genotype of father	Crossover types					Equality test		
	oc	♂	<i>sh-2</i>	<i>Re</i>		χ^2	DF	P
<i>Re</i> +♂/+ <i>sh</i> ♀ . .	44	40	10	11	oc and ♂ . . .	0.361	1	>0.5
++♂/ <i>Resh</i> ♀ . .	35	49	8	13	<i>sh-2</i> and <i>Re</i> .	0.000	1	>0.99
+ <i>sh</i> ♂/ <i>Re</i> +♀ . .	37	44	13	10				
<i>Resh</i> ♂/++♀ . .	46	40	9	6				
Totals	162	173	40	40				

(iv) *wa-2* and *sh-2* segregating in males. (Tables 4A-F.) Heterozygote types are homogeneous in giving an excess of *sh-2 sh-2* homozygotes and a heavy excess of males. Complementary genotypes are very unequal. This is due, at least in part, to sex-ratio differences between the four phenotypes +, *wa-2*, *sh-2*

Table 3A. Segregation of *Rex*, *waved-2* and sex in males.

Genotype of father	Phenotypes of progeny								Total
	<i>Re</i> + ♀	<i>Re</i> + ♂	<i>Rewa</i> ♀	<i>Rewa</i> ♂	++ ♀	++ ♂	+ <i>wa</i> ♀	+ <i>wa</i> ♂	
<i>Re</i> + ♂/+ <i>wa</i> ♀ . .	11	14	17	11	12	16	13	13	107
++ ♂/ <i>Rewa</i> ♀ . .	7	6	10	17	20	11	12	16	99
+ <i>wa</i> ♂/ <i>Re</i> + ♀ . .	18	15	3	13	10	7	16	13	95
<i>Rewa</i> ♂/++ ♀ . .	13	12	12	20	10	16	10	12	105
Totals	49	47	42	61	52	50	51	54	406

Table 3B. Single factor segregations; analysis of χ^2 .

	<i>Re</i> and +			+ and <i>wa-2</i>			♂ and ♀		
	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P
Deviation . .	0.158	1	>0.5	0.246	1	>0.5	0.798	1	>0.3
Heterogeneity	4.364	3	>0.1	1.334	3	>0.5	1.375	3	>0.5

Table 3C. Equality of complementary genotypes; analysis of χ^2 .

χ^2	DF	P
1.818	4	>0.7

Table 3D. Two factor segregations; analysis of χ^2 .

	<i>Re</i> and ♂			♂ and <i>wa-2</i>			<i>Re</i> and <i>wa-2</i>		
	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P	χ^2 *	DF	P
Deviation . . .	2.522	1	>0.1	0.246	1	>0.5	0.027	1	>0.8
Heterogeneity .	0.946	3	>0.8	7.805	3	>0.05	6.592	3	>0.05
Recombination	53.94 ± 2.47%			48.77 ± 2.48%			43.60 ± 2.46%		

* Expected values based on 44% recombination.

Table 3E. Three factor segregations; sex-linkage test.

	Crossover types					Equality test		
	oc	♂	<i>Re</i>	<i>wa-2</i>		χ^2	DF	P
<i>Re</i> + ♂/+ <i>wa</i> ♀ . .	27	24	33	23	oc and . . . <i>Re</i> and <i>wa-2</i> .	0.528 2.491	1 1	>0.3 >0.1
++ ♂/ <i>Rewa</i> ♀ . .	21	37	18	23				
+ <i>wa</i> ♂/ <i>Re</i> + ♀ . .	31	31	23	10				
<i>Rewa</i> ♂/++ ♀ . .	30	28	25	22				
Totals	109	120	99	78				

and *wa-2 sh-2* (Table 4F): within each phenotype the sex-ratio is homogeneous over the four heterozygotes types. Neither *wa-2* nor *sh-2* individually gives evidence of sex-linkage, but the joint test reveals inequality of the *sh-2* and *wa-2* crossover types, significant at the 5% (but not the 1%) probability level.

Table 4A. Segregation of *waved-2*, *shaker-2* and sex in males.

Genotype of father	Phenotypes of progeny								Total
	+ + ♀	+ + ♂	+sh ♀	+sh ♂	wa + ♀	wa + ♂	wash ♀	wash ♂	
++♂/wash♀ . .	14	22	6	8	2	6	15	32	105
wa+♂/+sh♀ . .	8	9	14	18	13	20	6	14	102
wash♂/++♀ . .	15	18	17	8	1	4	14	27	104
+sh♂/wa+♀ . .	6	14	24	20	12	18	2	4	100
Totals	43	63	61	54	28	48	37	77	411

Table 4B. Single factor segregations; analysis of χ^2 .

	+ and wa-2			+ and sh-2			♂ and ♀		
	χ^2	DF	E	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P
Deviation . . .	2.338	1	>0.1	5.375	1	<0.05	12.966	1	<0.001
Heterogeneity	7.140	3	>0.05	4.955	3	>0.1	2.510	3	>0.3

Table 4C. Equality of complementary genotypes; analysis of χ^2 .

χ^2	DF	P
26.188	4	<0.001

Table 4D. Two factor segregations; analysis of χ^2 .

	♂ and wa-2			♂ and sh-2			wa-2 and sh-2		
	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P	χ^{2*}	DF	P
Deviation . . .	0.703	1	>0.3	2.046	1	>0.1	0.000	1	>0.99
Heterogeneity .	6.243	3	>0.1	1.176	3	>0.7	6.286	3	>0.05
Recombination	47.93 ± 2.46%			53.53 ± 2.46%			27.98 ± 2.21%		

* Expected values based on 28% recombination.

Table 4E. Three factor segregations; sex-linkage test.

Genotype of father	Crossover types					Equality test		
	oc	♂	sh-2	wa-2		χ^2	DF	P
++♂/wash♀ . .	37	46	10	12	oc and ♂ . . . sh-2 and wa-2.	0.122	1	>0.7
wa+♂/+sh♀ . .	34	31	22	15		4.600	1	<0.05
wash♂/++♀ . .	42	32	21	9				
+sh♂/wa+♀ . .	32	42	16	10				
Totals	145	151	69	46				

Table 4F. Heterogeneity of sex ratios between phenotypes +, wa-2, sh-2 and wa-2sh-2.

Phenotype	Observed		Analysis of χ^2		
	♀	♂	χ^{2*}	DF	P
+	43	63	0.008	1	—
sh-2	61	54	6.895	1	—
wa-2	28	48	0.543	1	—
wa-2sh-2	37	77	3.440	1	—
Sum			10.887	4	—
Deviation . . .	169	242	0.002	1	>0.95
Heterogeneity . . .			10.885	3	<0.02

* Expected values based on 41% females.

Table 5A. Segregation of *Re* in females.

Genotype of mother	Phenotypes of progeny				
	<i>Re</i> ♀	<i>Re</i> ♂	+ ♀	+ ♂	Total
<i>Re</i> ♂/+ ♀ . . .	123	143	127	121	514
+ ♂/ <i>Re</i> ♀ . . .	163	153	141	175	632
Totals	286	296	268	296	1146

Table 5B. Single factor segregations; analysis of χ^2 .

	<i>Re</i> and +			♂ and ♀		
	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P
Deviation	0.283	1	>0.5	1.260	1	>0.2
Heterogeneity	0.348	1	>0.5	0.033	1	>0.8

Table 5C. Equality of complementary genotypes; analysis of χ^2 .

χ^2	DF	P
1.562	2	>0.3

Table 5D. Two factor distributions; analysis of χ^2 .

	<i>Re</i> and ♂		
	χ^2	DF	P
Deviation	4.276	1	<0.05
Heterogeneity	0.103	1	>0.7
Dissociation	46.94 $\pm$ 1.39%		

(v) *Re* segregating in females. (Tables 5A–D.) Single factor segregations are Mendelian and homogeneous. There is some evidence of pseudo-linkage of *Re* with sex, with 47% dissociation; it is significant at the 5% but not the 1% probability level.

(vi) *wa*-2 and *sh*-2 segregating in females. (Unbalanced data.) (Tables 6A–E.) Single factor segregations are Mendelian and homogeneous. There is strong evidence of pseudo-linkage of both *wa*-2 and *sh*-2 with sex, with 45% dissociation in each case, significant at the 0.1% probability level.

(vii) *wa*-2 and *sh*-2 segregating in females. (Tables 7A–E.) There is a slight deficiency of *wa*-2 *wa*-2 homozygotes and marked heterogeneity between heterozygote types in this respect; the segregations of *sh*-2 and sex are Mendelian and homogeneous. There is no significant inequality of complementary genotypes. Neither *wa*-2 nor *sh*-2 individually shews significant pseudo-linkage with sex, but the joint test reveals inequality of the *wa*-2 and *sh*-2 crossover types, significant at the 5% probability level. The pseudo-linkage of *wa*-2 with sex, 45.4%, is of the same strength as in the unbalanced data (Table 6D); *sh*-2, however, shews no sex-association.

Table 6A. Segregation of *waved-2* and *shaker-2* in females.

Genotype of mother	Phenotypes of progeny								Total
	+ + ♀	+ + ♂	+ sh ♀	+ sh ♂	wa + ♀	wa + ♂	wash ♀	wash ♂	
+ + ♂/wash ♀ . .	13	11	9	2	3	4	10	8	60
wash ♂/+ + ♀ . .	275	243	72	67	83	76	189	292	1297
Totals	288	254	81	69	86	80	199	300	1357

Table 6B. Single factor segregations; analysis of χ^2 .

	+ and wa-2			+ and sh-2			♂ and ♀		
	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P
Deviation . .	0.537	1	>0.3	2.565	1	>0.1	1.769	1	>0.1
Heterogeneity	1.352	1	>0.2	0.006	1	>0.9	2.581	1	>0.1

Table 6C. Equality of complementary genotypes; analysis of χ^2 .

χ^2	DF	P
8.793	4	>0.05

Table 6D. Two factor distributions; analysis of χ^2 .

	♂ and wa-2			♂ and sh-2			wa-2 and sh-2		
	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P	χ^{2*}	DF	P
Deviation . . .	11.514	1	<0.001	15.494	1	<0.001	0.063	1	>0.8
Heterogeneity .	3.191	1	>0.05	0.044	1	>0.8	1.598	1	>0.2
Dissociation . .	45.39 ± 1.35%			44.66 ± 1.35%			23.29 ± 1.15%		

* Expected values based on 23% recombination.

Table 6E. Three-factor distributions; sex-association test.

Genotype of mother	Crossover types					Equality test		
	oc	♂	sh-2	wa-2		χ^2	DF	P
+ + ♂/wash ♀ . .	21	21	5	13	oc and ♂ . . .	17.510	1	<0.001
wash ♂/+ + ♀ . .	567	432	148	150	sh-2 and wa-2.	0.316	1	>0.5
Totals	588	453	153	163				

(viii) *Re* and *Ta* segregating in females. (Tables 8A–E.) Single factor segregations are Mendelian and homogeneous; there is no evidence of viability differentials. *Re* does not shew linkage with the sex-linked gene *Ta*, nor pseudo-linkage with sex. *Ta* shews pseudo-linkage with sex, revealed by both the two-factor and the three-factor tests.

(ix) Summary of results. Recombination fractions, both from previously published data and from the data of Tables 1A–8A, are summarised in Table 9.

Table 7A. Segregation of *waved-2* and *shaker-2* in females.

Genotype of mother	Phenotypes of progeny								Total
	++ ♀	++ ♂	+sh ♀	+sh ♂	wa+ ♀	wa+ ♂	wash ♀	wash ♂	
++♂/wash♀ . .	15	24	3	9	6	5	17	25	104
wa+♂/+sh♀ . .	5	5	21	14	24	20	5	9	103
wash♂/++♀ . .	31	27	8	5	4	4	8	19	106
+sh♂/wa+♀ . .	8	10	18	25	10	19	9	4	103
Totals	59	66	50	53	44	48	39	57	416

Table 7B. Single factor segregations; analysis of χ^2 .

	+ and wa-2			+ and sh-2			♂ and ♀		
	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P
Deviation . .	3.846	1	>0.05	0.779	1	>0.3	2.461	1	>0.1
Heterogeneity	13.564	3	<0.01	6.781	3	>0.05	4.460	3	>0.2

Table 7C. Equality of complementary genotypes; analysis of χ^2 .

χ^2	DF	P
7.853	4	>0.05

Table 7D. Two factor distributions; analysis of χ^2 .

	♂ and wa-2			♂ and sh-2			wa-2 and sh-2		
	χ^2	DF	P	χ^2	DF	P	χ^2 *	DF	P
Deviation . . .	3.471	1	>0.05	0.038	1	>0.8	0.009	1	>0.9
Heterogeneity .	0.919	3	>0.8	2.462	3	>0.3	3.340	3	>0.3
Dissociation . .	45.43 ± 2.44%			50.48 ± 2.45%			23.80 ± 2.09%		

* Expected values based on 24% recombination.

Table 7E. Three factor distributions; sex-association test.

Genotype of mother	Crossover types					Equality test		
	oc	♂	sh-2	wa-2		χ^2	DF	P
++♂/wash♀ . .	41	40	15	8	oc and ♂ sh-2 and wa-2	0.912	1	>0.3
wa+♂/+sh♀ . .	41	38	14	10		4.455	1	<0.05
wash♂/++♀ . .	50	35	12	9				
+sh♂/wa+♀ . .	35	37	19	12				
Totals	167	150	60	39				

Discussion.

We are faced with three questions. (i) Do the progeny of heterozygotes for Group VII markers shew sex-linkage-like departures from random segregation? (ii) If so, are these departures confined to the progeny of male heterozygotes, as would be expected for true sex-linkage? (iii) If they exist also in the progeny of female heterozygotes, what is their nature?

Table 8A. Segregation of *Rex* and *Tabby* in females.

Genotype of mother	Phenotypes of progeny								
	<i>Ta</i> + ♂	++ ♂	<i>Ta Re</i> ♂	+ <i>Re</i> ♂	<i>Ta</i> + ♀	++ ♀	6-class totals	<i>Re</i> ♀	7-class totals
<i>Ta Re</i> ♂/++ ♀ .	24	30	23	28	26	24	155	43	198
+ <i>Re</i> ♂/ <i>Ta</i> + ♀ .	25	32	22	24	22	34	159	58	217
<i>Ta</i> + ♂/+ <i>Re</i> ♀ .	23	25	26	26	31	26	157	42	199
++ ♂/ <i>Ta Re</i> ♀ .	27	20	27	26	16	36	152	49	201
Totals	99	107	98	104	95	120	623	192	815

Table 8B. Single factor segregations; analysis of χ^2 .

	<i>Ta</i> and +			<i>Re</i> and +			♂ and ♀		
	χ^2	DF	<i>P</i>	χ^2	DF	<i>P</i>	χ^2	DF	<i>P</i>
Deviation . .	2.441	1	>0.1	0.894	1	>0.3	0.001	1	>0.95
Heterogeneity	1.859	3	>0.5	0.637	3	>0.8	1.294	3	>0.7

Table 8C. Equality of complementary genotypes; analysis of χ^2 .

χ^2 *	DF	<i>P</i>
3.120	3	>0.3

* The classes *Ta* + ♂ and ++ ♂ lumped for comparison with the lumped classes *Ta Re* ♀ and + *Re* ♀.

Table 8D. Two factor distributions; analysis of χ^2 .

	<i>Ta</i> and ♂			<i>Re</i> and ♂			<i>Ta</i> and <i>Re</i>		
	χ^2	DF	<i>P</i>	χ^2	DF	<i>P</i>	χ^2	DF	<i>P</i>
Deviation . . .	4.175	1	<0.05	1.680	1	>0.1	0.002	1	>0.95
Heterogeneity .	1.668	3	>0.5	1.397	3	>0.7	3.169	3	>0.3
Dissociation . .	54.09 ± 1.99%			52.27 ± 1.75%			50.08 ± 2.00%		

Table 8E. Three factor distributions; sex-dissociation test.

Genotype of mother	Crossover types					Equality test		
	oc	♂	<i>Ta</i>	<i>Re</i>		χ^2	DF	<i>P</i>
<i>Ta Re</i> ♂/++ ♀ .	47	30	54	24	oc and ♂ . . . <i>Ta</i> and <i>Re</i> . .	4.891	1	<0.05
+ <i>Re</i> ♂/ <i>Ta</i> + ♀ .	46	25	56	32		0.462	1	>0.3
<i>Ta</i> + ♂/+ <i>Re</i> ♀ .	23	57	25	52				
++ ♂/ <i>Ta Re</i> ♀ .	20	63	27	42				
Totals	136	175	162	150				

It is clear that there was some disturbance of the sex distribution of *wa-2* and *sh-2* when they segregated simultaneously. All of three balanced experiments intended to test this distribution gave statistically significant indications of a disturbance. In WRIGHT's experiment the significance was high ($\chi^2_1 > 10$); SNELL's backcross data were consistent with WRIGHT's; and beside these may be set the unbalanced data gleaned from the breeding records at EDINBURGH

Table 9. *Summary of all data.*

Source of data	Phase balance †	No. of mice	Recombination percentages							
			♂ and Re	♂ and sh-2	♂ and wa-2	♂ and Ta	Re and Ta	Re and sh-2	Re and wa-2	wa-2 and sh-2
Male gametogenesis										
SNELL and LAW (1939) . . .	U	56	—	—	—	—	—	—	—	26.8 ± 5.9
FALCONER (1947).	U	38	—	—	—	—	—	—	—	—
WRIGHT (1947)	B	453	—	56.7 ± 2.3**	56.1 ± 2.3**	—	—	18.4 ± 4.4	—	31.1 ± 2.2
SNELL, quoted by FISHER, LYON and OWEN (1947) . .	U	143	—	54.5 ± 4.0	55.2 ± 4.0	—	—	—	—	30.1 ± 3.6
FISHER, LYON and OWEN (1947)	U	689	51.0 ± 2.0	—	—	—	—	—	—	—
New data, Table 1A	U	1544	53.0 ± 1.3*	—	—	—	—	—	—	—
New data, Table 2A	B	415	51.3 ± 2.5	51.3 ± 2.5	—	—	—	19.3 ± 1.9	—	—
New data, Table 3A	B	406	53.9 ± 2.5	—	48.8 ± 2.5	—	—	—	43.6 ± 2.5	—
New data, Table 4A	B	411	—	53.5 ± 2.5	48.0 ± 2.5	—	—	—	—	28.0 ± 2.2
Female gametogenesis										
SNELL and LAW (1939) . . .	U	256	—	—	—	—	—	—	—	25.0 ± 2.7
FALCONER (1947).	U	23	—	—	—	—	—	—	—	—
FALCONER (1947).	U	122	—	—	—	—	—	21.7 ± 8.6	—	—
CARTER (1951)	B	376	—	—	—	—	—	—	41.0 ± 7.2	—
New data, Table 5A	B	1146	46.9 ± 1.4*	—	—	—	—	—	42.3 ± 2.5	—
New data, Table 6A	U	1357	—	44.7 ± 1.3**	45.4 ± 1.3**	—	—	—	—	23.3 ± 1.1
New data, Table 7A	B	416	—	50.5 ± 2.4	45.4 ± 2.4	—	—	—	—	23.8 ± 2.1
New data, Table 8A	B	815	52.3 ± 1.7	—	—	—	—	—	—	—
New data, Table 8A	B	623	—	—	—	54.1 ± 2.0*	50.0 ± 2.0	—	—	—

† B balanced; U unbalanced. * Significant at the 5% probability level; ** significant at the 1% level.

($\chi^2_1 > 17$). In the two new balanced experiments (Tables 4A and 7A), however, the significance was low ($\chi^2_1 = 4.6$ and $\chi^2_1 = 4.45$). The evidence of disturbance is less convincing for *Re* when segregating by itself or with *Ta*; it is non-existent for *Re* when segregating with *wa-2* or *sh-2*.

It is clear also that a sex-distribution disturbance is not confined to the progeny of male heterozygotes: in fact, the highest value of χ^2 found ($\chi^2_1 > 17$) referred to the segregation of *wa-2* and *sh-2* in females. On the other hand, a disturbance was not consistently present in either the female or the male segregation data: thus *sh-2* gave a significantly high sex-recombination in WRIGHT's experiment ($56.7 \pm 2.3\%$), but Table 2A shews it segregating independently of sex ($51.3 \pm 2.5\%$); for female segregation, *sh-2* shews significant association with sex in Table 6A ($44.7 \pm 1.3\%$), but not in Table 7A ($50.5 \pm 2.4\%$).

Taken together, the data cannot be said to support the sex-linkage interpretation. Two features lead to this conclusion, namely (i) the failure of *wa-2* and *sh-2* to give consistent evidence of sex-linkage in experiments intended to repeat and extend WRIGHT's work, and (ii) the presence of a sex-linkage-like disturbance in the female segregation data, where it cannot be due to sex-linkage. Affinity (MICHIE 1953), i.e. a tendency for centromeres of like origin to shew non-random segregation at meiosis, likewise fails to provide an explanation of pseudo-sex-linkage, where sex is segregating in one parent and marker genes in the other.

What, then, is the nature of the disturbance? One possible hypothesis is based on selective fertilisation. It requires, however, a number of assumptions which appear rather improbable, e.g. that a sperm carrying a marked chromosome segment derived from the male's father has an enhanced (or reduced) probability of fertilising an egg in which the homologous chromosome segment was derived from the female's father.

Another effect is suggested by the male segregation data of Table 4A, namely classification as males of animals which are genetically female, especially within the phenotype *wa-2 sh-2*; there are similar indications in the corresponding female segregation data (Tables 6A and 7A). This could hardly be due to widespread and homogeneous sexing errors, so it would be necessary to suppose that there may be some change in the appearance of the external genitalia associated with this phenotype. This, however, though it would bias the estimate of an existing linkage, could not produce the appearance of linkage where none in fact exists.

It seems unlikely that an early solution of the problem will be obtained from breeding data alone. Table 9 summarises the records of more than eight thousand mice, of which nearly three thousand were bred in balanced experiments; and yet no clear evidence has been obtained about the cause of the disturbed segregations. Elucidation may perhaps require a cytogenetic approach. For the present it can only be concluded that there is sometimes a disturbance in the sex-distribution of *wa-2* and *sh-2*, and perhaps of *Re*, when segregating in either sex; that the available data fail to support a partial sex-linkage interpretation; and that the nature of the disturbance is unknown.

Acknowledgments.

We are grateful to Dr. D. S. FALCONER for permission to quote some data abstracted from the breeding records of the Agricultural Research Council's group at this Institute; to Miss M. M. MANSON and Miss G. I. E. MAYOR for technical assistance in carrying out the experiments; and to Miss S. DARE-DELANEY for help in preparing the manuscript.

Summary.

WRIGHT (1947) reported partial sex-linkage of *wa-2* (*waved-2*) and *sh-2* (*shaker-2*) in the mouse, with recombination exceeding 50%. Three experiments are now reported, including a repeat of WRIGHT's experiment, in which *wa-2*, *sh-2* and a linked marker *Re* (*Rex*) were tested; no consistent evidence of sex-linkage was found. A linkage-like disturbance was found in the sex-distribution of the progeny of females heterozygous for *wa-2* and *sh-2*, both in the records of breeding performed for other purposes and in an experiment specially intended to test this point. The cause of the disturbance is obscure; it cannot be due to sex-linkage. New data are given on the linkages of *wa-2*, *sh-2* and *Re*.

Zusammenfassung.

WRIGHT (1947) berichtet, daß die Gene *wa-2* (*waved-2*) und *sh-2* (*shaker-2*) partielle Geschlechtsgebundenheit zeigen, und daß die Rekombinationshäufigkeit mit dem Geschlecht 50% übersteigt. Drei Experimente, von denen eines eine Wiederholung des WRIGHTschen Experiments war, wurden ausgeführt, um die Beziehung von *wa-2*, *sh-2* und dem mit ihnen gekoppelten Gen *Re* (*Rex*) zum Geschlecht zu prüfen. Sie ergaben keinen gesicherten Beweis für Geschlechtsgebundenheit. Eine einer Koppelung gleichende Störung der Geschlechtsverteilung fand sich in der Nachkommenschaft von Weibchen, die heterozygot waren für *wa-2* und *sh-2*, und zwar übereinstimmend in einem eigens dazu angestellten Experiment wie in älteren, zu anderen Zwecken angestellten Kreuzungen. Die Ursache dieser Störung konnte nicht festgestellt werden; es kann sich aber nicht um Geschlechtsgebundenheit handeln. Neue Koppelungswerte für *wa-2*, *sh-2* und *Re* werden gegeben.

References.

- CARTER, T. C.: Wavy-coated mice; phenotypic interactions and linkage tests between *Rex* and (a) *waved-1*, (b) *waved-2*. *J. Genet.* **50**, 268 (1951). — FALCONER, D. S.: Linkage of *Rex* with *shaker-2* in the house mouse. *Heredity* (Lond.) **1**, 133 (1947). — A totally sex-linked gene in the house mouse. *Nature* (Lond.) **169**, 664 (1952). — FISHER, R. A., M. F. LYON and A. R. G. OWEN: The sex chromosome of the house mouse. *Heredity* (Lond.) **1**, 355 (1947). — FISHER, R. A., and K. MATHER: A linkage test with mice. *Ann. of Eugen.* **7**, 265 (1936). — GRÜNEBERG, H.: *The Genetics of the Mouse*, The Hague, Martinus Nijhoff. 2. edit., pp. 650. 1952. — MICHIE, D.: A new linkage in the house mouse: *vestigial* and *Rex*. *Nature* (Lond.) **170**, 585 (1952). — Affinity: a new genetic phenomenon in the house mouse. *Nature* (Lond.) **171**, 26 (1953). — SNELL, G. D., and L. W. LAW: A linkage between *shaker-2* and *wavy-2* in the house mouse. *J. Hered.* **30**, 447 (1939). — WRIGHT, M. E.: Two sex-linkages in the house mouse with unusual recombination values. *Heredity* (Lond.) **1**, 349 (1947).

Dr. T. C. CARTER and Miss RITA J. S. PHILLIPS,
Institute of Animal Genetics Kings Buildings, West Mains Road, Edinburgh
(Scotland).

Zoological Laboratory and Institute of Genetics, University of Utrecht*.

AN INVESTIGATION INTO THE METAMORPHOSIS OF THE MUTANT
LETHAL-TRANSLUCIDA OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*.

By

F. H. SOBELS and L. E. NIJENHUIS.

With 6 text-figures.

(Eingegangen am 21. August 1953.)

Introduction and Problems.

The mutant *lethal-translucida* (*ltr*, 3-21±) was first described by HADORN (1948 and 1949). Larvae homozygous for this gene are easily distinguishable by their bloated and very transparent appearance, due to an excessive accumulation of haemolymph and to a reduction of the fat-body. On account of the abundant haemolymph the *ltr* homozygotes appear much larger than normal larvae, whereas their dry-weight only amounts to 60% of normals of the same age (CHEN 1951).

Puparium-formation takes place normally, but with a delay of one day. The excessive haemolymph then accumulates between the puparium and the pupa. In most instances the small pupa looks as if it is being suspended in the huge, inflated puparium. Thereafter all animals undergo a limited degree of metamorphosis: that is evagination of the head and thoracic discs takes place. In the majority of pupae development is blocked at this stage. Only in about 20—30% of the pupae imaginal differentiation, such as the production of red eye-pigment and the development of bristles on head, thorax, wings and legs, occurs.

Typically for *ltr*, the metamorphic changes remain restricted to the head and thoracic region, whereas the abdomen does not develop beyond the prepupal stages (cf. HADORN 1948 and 1949). According to our own observations, imaginal differentiation of the abdominal sclerites and external genitalia may occur, though very rarely.

In order to test whether the imaginal primordia of *ltr* are damaged directly by the action of the lethal gene, they were extracted from the lethal larvae and transplanted into normal hosts (HADORN 1949; SOBELS 1950). The perfect metamorphosis of the various transplanted organ systems showed that their potency for normal imaginal development had remained unchanged. The incomplete development of the lethal pupae thus seems to be due to secondary pleiotropic effects of the *ltr* gene.

The main purpose of the present study was to investigate the reasons why only a limited number, such as 20–30%, of the *ltr* pupae undergo regional metamorphosis, i. e. metamorphosis restricted to the head and thorax, and why imaginal differentiation of the abdomen is almost completely suppressed.

* This work was started in 1949 in the Institute of Zoology and Comparative Anatomy of the University of Zurich.

The lack of abdominal differentiation may be due to an insufficient supply of metamorphosis-promoting agents, as for example ring-gland hormone or oxygen. On the other hand, due to their abnormal genotypic constitution, the reaction capacity of the imaginal tissues in *ltr/ltr* pupae may be lowered. This was studied by means of transplantation experiments.

In relation to the first possibility the work of BODENSTEIN (1939a and b) seems of particular interest. BODENSTEIN found that the abdomen of *Drosophila hydei* pupae stays undifferentiated when it is separated from the thorax by means of a ligature before 28 hours after puparium formation. When such ligatured individuals were put into a pure oxygen atmosphere imaginal differentiation in the abdomen, though considerably delayed, becomes restored. These experiments show that the differentiation of the abdominal ectoderm is only possible when the oxygen in the abdomen reaches a certain concentration level. Before a certain period, i. e. in *D. hydei* between 28 and 48 hours, the differentiation of the abdomen depends upon the oxygen supply furnished by the thorax. ROBERTSON (1936) showed that the anterior portion of a *Drosophila* pupa has an uninterrupted supply of air during the whole pupal development. Even before the connection of the larval anterior spiracles with the tracheal system is broken, the later prothoracic spiracles are already formed in the pre-pupa. In the young pupa the prothoracic stigmata are connected with the two longitudinal trunks of the larva. During development the latter undergo great changes, forming the thoracic air sacs. In the abdomen, however, we are faced with a different situation. Here the posterior portions of the longitudinal tracheae lose their connection with the spiracles at the formation of the puparium. A tracheal system which is functionally independent of that of the thorax is developed but much later in pupal development.

The pupae deprived of abdominal differentiation in BODENSTEIN's ligaturing experiments show, in fact, a striking resemblance to those *ltr* homozygotes where metamorphosis is restricted to the head and thorax. It therefore seemed at least suggestive to assume that, owing to their isolated position in the large pupal case filled with haemolymph, the total oxygen supply in such individuals remained below the critical level to make abdominal differentiations possible.

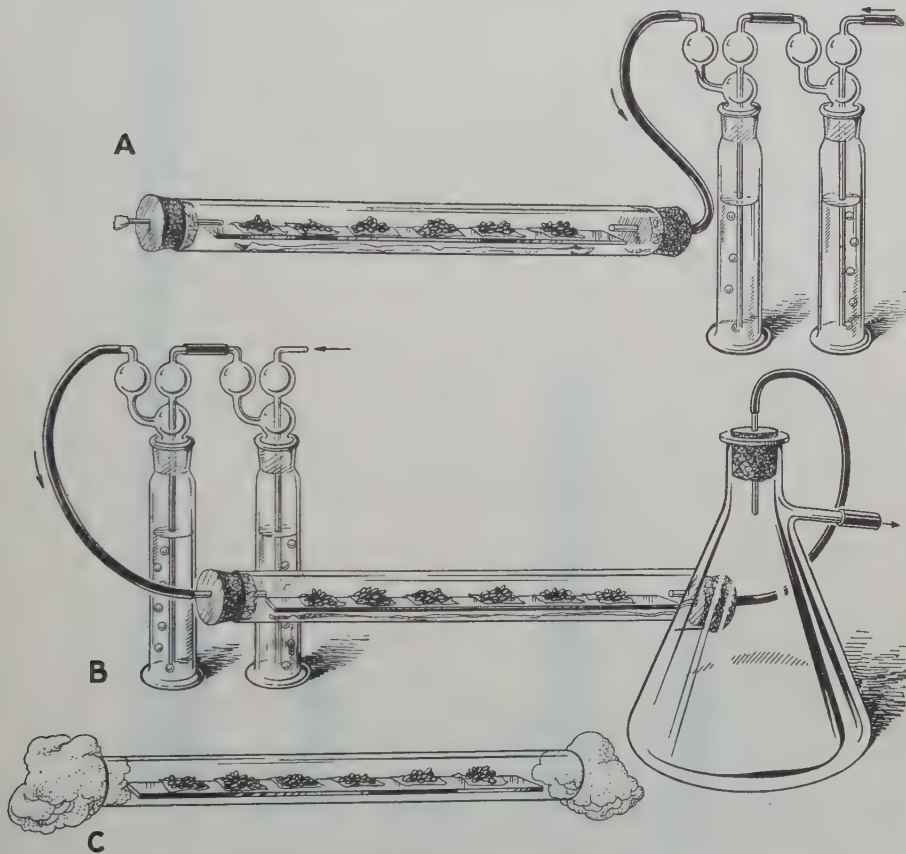
This hypothesis was tested by comparing the degree of metamorphosis of *ltr* pupae kept in pure oxygen, with that of pupae in air.

Material and Methods.

In the *ltr/In (3L+3R)* stock, used for the experiments, the *ltr* gene is balanced over a large inversion in the homologous third chromosome. Individuals homozygous for this inversion die in the embryonic stages. The *ltr/In (3L+3R)* genotype thus is the only viable genotype in the offspring.

For the oxygen treatment of the *ltr* pupae an apparatus, very like that of BODENSTEIN (1939c), was used (see Fig. 1). The pupae lying on small strips of moist filter paper were placed on a long narrow piece of glass which was slipped into a glass tube. A continuous stream of pure oxygen was then led through the glass tube (Fig. 1A). By saturating the oxygen with water, evaporation from the pupae was prevented. Two different types of control experiments were set up.

In one the pupae were placed in a glass tube which was closed at both ends by plugs of cotton wool (Fig. 1 C). In another control series (Fig. 1 B), which was always run parallel to the first one, pupae were exposed to air sucked by a water pump and flowing with the same speed as the oxygen in tube A. This was done to investigate whether an eventual rise in the degree of metamorphosis of the



Figs. 1 A—C. The apparatus used for comparing the metamorphosis of homozygous *ltr* pupae in oxygen and air. A Oxygen; B flowing air; C stationary air.

pupae kept in a stream of oxygen might be purely ascribed to the oxygen or to the effect of the flow of gas.

The experiments were done at 25° C. The *ltr* pupae stayed for seven days in the tubes, whereafter they were dissected out of their pupal cases to determine their degree of differentiation.

The influence of oxygen on imaginal differentiation.

The data of different experiments in which metamorphosis in an oxygen atmosphere was compared with that in air are diagrammatically represented in Fig. 2. It is clear from the diagram that the treatment with oxygen substantially increased the degree of metamorphosis achieved by the pupae. Thus the percentage of pupae showing the highest degree of metamorphosis (class A) was

increased from 0.5 to 19.7% and the percentage showing no imaginal differentiation at all (class E) was reduced from 84.6 to 19.0%. This proves that lack of oxygen

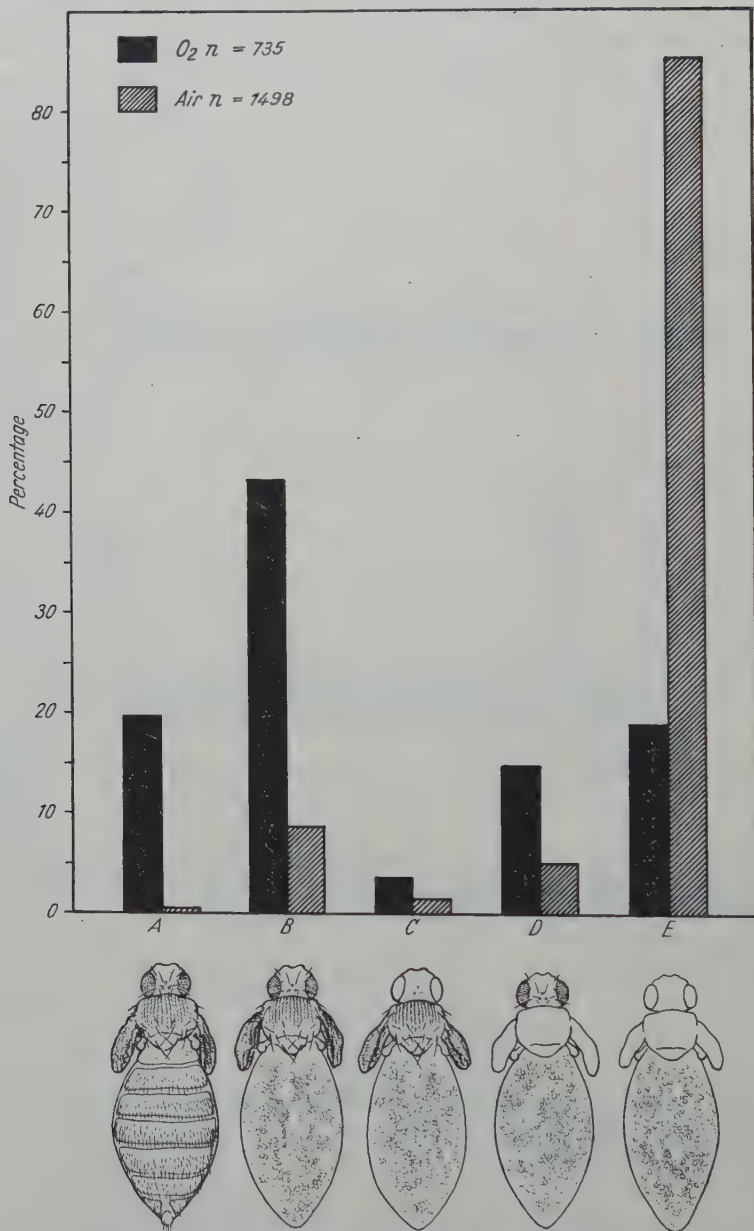


Fig. 2. The influence of pure oxygen on the degree of metamorphosis in homozygous *ltr* pupae. A Metamorphosis of head, thorax and abdomen; B metamorphosis restricted to the head and thorax; C metamorphosis of the thorax, red eye pigment missing; D eyes fully pigmented, no metamorphosis of the thoracic hypoderm; E no imaginal differentiation.

is responsible, at least in part, for the failure of imaginal differentiation of *ltr* pupae under normal culture conditions.

A comparison of the data under A and B (Fig. 2) shows that the imaginal differentiations of the abdomen increase disproportionately to those in the head and thorax region. The heterogeneity χ^2 for this comparison is 340, which is highly significant. In addition it may be mentioned that cases of metamorphosis in the abdomen, without imaginal differentiation in either the head or thorax have never been observed.

The increase of metamorphosis in oxygen cannot merely be ascribed to the effects of the flow of gas since the two types of control experiment in stationary ($n = 742$) and in flowing air ($n = 756$), differed hardly at all, the heterogeneity χ^2 being 0.0025. The two types were accordingly combined and are shown together in Fig. 2.

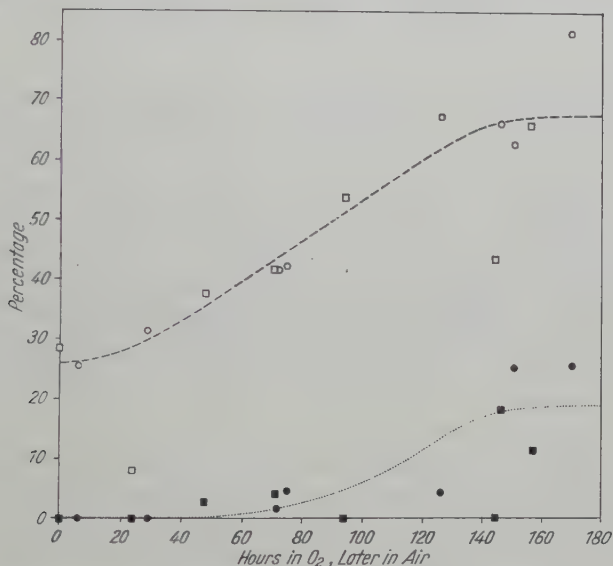


Fig. 3. The relationship between the time during which the *ltr* pupae were kept in oxygen and the percentage of metamorphosis. Open circles and squares represent regional metamorphosis, i. e. classes A + B and half the frequencies in classes C and D of Fig. 2. Closed circles and squares represent abdominal metamorphosis, i. e. class A of Fig. 2. Circles refer to experiment 1, $n = 317$; squares to experiment 2, $n = 265$. Standard errors for regional metamorphosis vary between 4.1 and 10.1 %; for abdominal metamorphosis between 1.5 and 10.8 %.

The critical period in oxygen for maximum differentiation in air.

To determine the minimal time during which the lethal pupae have to stay in oxygen to give a maximum percentage of metamorphosing individuals, the following experiments were done.

During a period of seven days young *ltr* pupae were put at regular intervals into the oxygen tube. Then after seven days the whole array was transferred to the air tube. Thus, according to the time at which they were placed in the first tube, the pupae were subjected for a longer or shorter period to the stimulating influence of oxygen. For pooling the data summarized in Fig. 3, upper graph, the percentages of animals showing pigmentation of the eyes only or differentiation restricted to the thorax, are halved and added to the percentage of individuals showing metamorphosis of both head and thorax.

Up to about 120 hours there is a striking proportionality between the period during which the pupae stayed in oxygen and the percentage of regional metamorphosis. The effect of exposure-time on abdominal metamorphosis is less clear, though here again the maximum effect is obtained only after a long exposure. After this time, however, the points are very scattered and, considering their large standard errors, no definite conclusion can be reached.

The data show that oxygen not merely gives the impetus initiating imaginal differentiation, but that for the completion of the differentiation processes its continuous supply is needed. Moreover, it has been observed that pupae which remained for 48 to 94 hours in oxygen showed a disproportionately high percentage of pigmentation of the eyes only. This is in accordance with expectation, as the formation of the red eye pigment starts earlier than the pigmentation of the bristles and hairs.

The considerable delay of morphogenetic development is also apparent. For homozygous *ltr* pupae CHEN (1951) gives as an average time for the beginning of pigmentation of the eyes 60–80 hours (normally 50 hours) and for that of the thoracic bristles and hairs 90 hours (normally 75 hours). Differentiation of the abdominal hypoderm in the normal animal proceeds at a lower rate than that of the thorax (BODENSTEIN 1950). The delay of imaginal development seems somewhat more pronounced in our experiments than in those of CHEN. Nevertheless there is a fair correspondence between his estimations and the critical period in oxygen for obtaining a maximum percentage of imaginal differentiation.

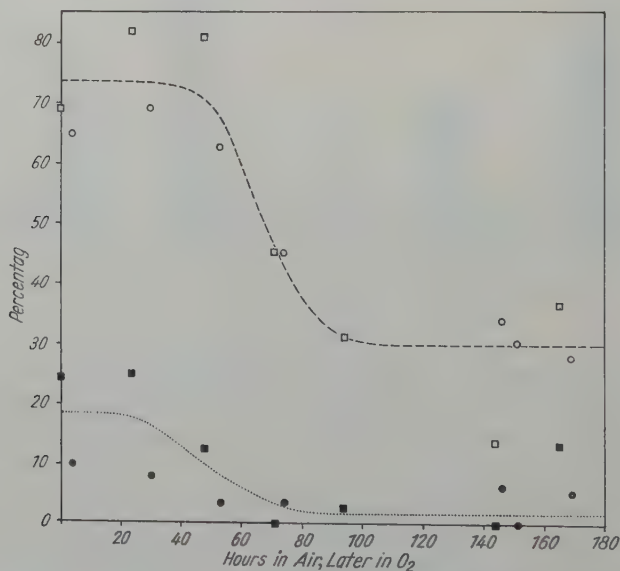


Fig. 4. The relationship between the time during which *ltr* pupae were kept in air and their capability for giving imaginal differentiation in oxygen. Open circles and squares indicate regional metamorphosis, i. e. classes A + B and half the frequencies in classes C and D of Fig. 2; standard errors vary between 5.7 and 11.1 %. Closed circles and squares represent abdominal metamorphosis, i. e. class A of Fig. 2; standard errors vary between 2.4 and 7.2 %. Circles refer to experiment 1, $n = 263$; squares to experiment 2, $n = 237$.

The critical period of tissue-responsiveness.

For determining the time that *ltr* pupae can stay in air without losing the capacity of rendering a maximum percentage of metamorphosis in oxygen, experiments similar to those described above were carried out. But now the young pupae were first put into air and then at regular intervals transferred to the tube with oxygen. The data shown in Fig. 4, upper graph, are pooled in the same way as those of Fig. 3.

The graph shows that after about 50 hours the responsiveness for regional metamorphosis drops sharply, to remain constant at the level of the controls after about 90 hours. The differentiations of the abdomen show about the same trend, though there the drop seems to occur somewhat earlier in pupal development.

We see no plausible explanation for the unexpected rise of the frequency of abdominal metamorphosis between 140 and 170 hours. The standard errors are again large and this rise may not be a real one. It will be suggested in the discussion, however, that the *ltr* material is probably not completely homogeneous in respect of the potency for imaginal differentiation.

Imaginal differentiations of the abdomen.

With regard to the metamorphosis in the abdomen it must be stated that only some of these pupae showed imaginal differentiation of the whole abdominal hypoderm (see Fig. 5B). There were other individuals in which only the first three tergites or the outer genitalia, or both, had developed (see Fig. 5C).

The frequency of the different types of abdominal differentiation is shown in Table 1.

In relation to these observations it may be noted that only part of the *ltr* pupae are strongly contracted in their pupal cases; others are very large and lying relatively close to the puparium. This situation was predominantly encountered in those pupae showing imaginal differentiation of the abdominal segments.

Table 1. *Imaginal differentiations of the abdomen.*

<i>n</i>	More than segments 1-3 and genitalia	Segments 1-3 and genitalia	Segments 1-3 only	Genitalia only
112	52	16	11	33

A more intensive diffusion of the outside air into these pupae thus presumably created better conditions for the completion of imaginal differentiation. The striking difference in size between these *ltr* pupae and a normal pupa can be observed in Fig. 5.

The imaginal differentiation of the first three tergites, on the one hand, suggests the existence of an oxygen gradient in antero-posterior direction. On the other hand it is known that in normal development imaginal differentiation proceeds faster in the first three abdominal segments than in the more posterior ones (BODENSTEIN 1950). According to the same author, metamorphosis of the genital disc is also completed much earlier than that of the rest of the abdominal hypoderm.

The higher incidence of imaginal differentiation of the genitalia shows a correspondence to those cases, described by BODENSTEIN (1939b), in which eye discs transplanted into ligatured abdomina showed imaginal differentiation in abdomina that remained undifferentiated themselves. BODENSTEIN explains these phenomena by recalling that the visible differentiation of the abdominal hairs occurs at a relatively late stage in the development of the pupae. Differentiation in the abdominal segments can only be detected if it continues to the point when the outgrowth of the hairs takes place. In the development of the eye the successive stages of differentiation can be followed from the beginning.



Fig. 5 A—C. Imaginal differentiations in the abdomens of homozygous *ltr* pupae. A Normal pupa, shortly before hatching. B Imaginal differentiation of all abdominal sclerites and of the genitalia. C Metamorphosis of the first three segments and of the outer genitalia. *An. pl.* anal plate; *Spt.* spermathecae; *Terg.* tergites (indicated by numbers). Camera lucida $\times 21$.

In analogy to BODENSTEIN's observations, the differentiations of the genital disc and of the anterior abdominal segments, in abdomens without further imaginal differentiation, might be considered as indications of earlier differentiation processes.

The development of normal eye discs after transplantation into ltr/ltr hosts.

The incomplete imaginal differentiation in the lethal pupae may, besides being caused by an insufficient supply of oxygen, be due at least in part to genotypic deficiencies in the reacting system.

To test this assumption, eye discs from normal larvae were transplanted into homozygous *ltr* larvae and their further development was observed.

The transplantations were done according to the method of EPHRUSSI and BEADLE (1936). The eye-implants used for histological examination were first enclosed in tiny agar cubes after fixation in Bouin. Sections were cut at 5μ and stained with haemalum-erythrosin.

Puparium formation in the *ltr/ltr* hosts was only obtained in 107 out of 265 transplantations. The high internal pressure of the inflated *ltr/ltr* larvae made the implantations difficult and it accounts for the rather high number of unsuccessful cases.

As controls for the transplantation experiments larvae were punctured with a glass needle 6–12 hours before puparium formation. Like implantation this causes a flowing out of haemolymph, and in consequence a smaller puparium is formed. Since in these cases the pupa more closely fits the puparium, a better

Table 2. *The different degrees of imaginal differentiation after transplantation of ltr/+ eye discs into ltr/ltr hosts.*

N	Imaginal Differentiation				
	Hosts			Implants	
	head + thorax	eyes with red pigment	abdomen	formation of red pigment	well developed ommatidia
1	+	+	+	+	+
1	+	—	—	+	+
1	+	+	—	+	+
1	—	+	—	+	+
5	—	—	—	+	+
1	+	+	—	—	—
3	+	—	—	—	—
94	—	—	—	—	—

* Eye pigment brownish.

** Development of the ommatidia blocked in early stage.

supply of oxygen, and thus a higher rate of metamorphosis, might be expected. This, however, is not the case. Out of 83 individuals which formed a puparium only 3 showed imaginal differentiation of the head and thorax.

The results, summarized in Table 2, show that imaginal differentiation of the eye implants can take place in pupae where the abdominal hypoderm remained undifferentiated. Such a pupa is shown in Fig. 6A. On the section of the implant (Fig. 6B), the advanced stage of imaginal development is clearly seen. Cornea lenses, setae and ommatidia are all well developed.

These cases are very like those obtained by BODENSTEIN (1939 b; see also p. 586), where eye implants developed in ligatured pupae with an undifferentiated abdominal hypoderm.

More remarkable are those five cases in which imaginal differentiations are completely lacking in the hosts; but which are characterized by a red-pigmented eye implant within their abdomens. Histological examination showed that the red pigment cannot be considered as a degeneration pigment (cf. BODENSTEIN 1938). Ommatidia corresponding to stages 5–7 of BODENSTEIN (1938) have developed in all cases. In those having most advanced development even cornea lenses with hairs could be observed.

The imaginal differentiation of the implants proves that the metamorphosis-promoting stimuli cannot have been missing completely in these pupae. The results therefore suggest a genotypic weakening of the reaction capacity of the imaginal discs in the *ltr/ltr* hosts.

But it was shown by HADORN (1949) that, after transplantation into normal hosts, the *ltr/ltr* primordia are capable of normal differentiation. These seemingly contradictory results may be explained by assuming that in the normal pupae both the metamorphosis-promoting stimuli and the reaction capacity of the imaginal tissues are far beyond the threshold value necessary for imaginal differentiation. Our previous results showed, however, that in homozygous *ltr* pupae both factors are weakened. A normal eye disc implanted into *ltr* individuals

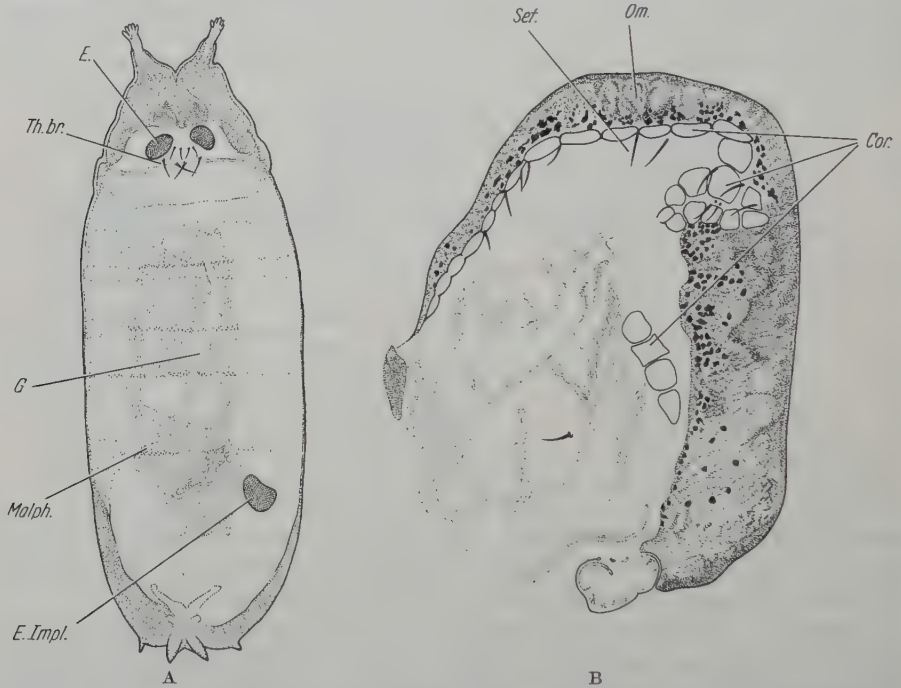


Fig. 6 A and B. A The development of a *ltr*/+ eye implant in a *ltr/ltr* pupa with undifferentiated abdomen, $\times 25$. B A section through the implant of the pupa shown under A. $\times 390$. Cor. cornea lenses; E. eyes; E. Impl. eye implant; G. gut; Malph. malpighian tubules; Om. ommatidia; Set. setae; Th. br. thoracic bristles. Camera lucida drawings.

is still capable of responding to stimuli which clearly remain below the threshold to give differentiation of the eye discs of the *ltr/ltr* hosts. In the case of HADORN's transplantations, on the other hand, the metamorphosis-promoting agencies obviously acted so strongly that, despite their weakened reaction capacity, the *ltr* eye discs responded with imaginal differentiation.

Discussion.

Our experiments showed that when *ltr/ltr* pupae are kept in pure oxygen the frequency of individuals with imaginal differentiation is raised considerably. This suggested that under normal conditions the oxygen supply in the lethal pupae stays below a critical level. In consequence of the isolated position of the *ltr/ltr* pupa in its puparium, the insufficiency of oxygen will be caused by the

outside air diffusing into the space between the pupal and the prepupal membranes at too low a rate. As the oxygen supply of the abdomen is dependent on the thoracic tracheal system, the limited amount of oxygen is mainly used up for the differentiation of the anterior part of the pupae. Therefore imaginal differentiations in the abdomen of pupae kept in air are nearly completely suppressed.

The problem remains, however, why under normal conditions only about 20 to 30% of the *ltr* pupae show regional metamorphosis and why, after keeping the pupae in oxygen, imaginal differentiation of the abdomen is also limited to about 20% of the individuals.

In this connection the comparative study of CHEN (1951) on the oxygen consumption of normal and homozygous *ltr* pupae seems of great interest. In normal pupae the oxygen consumption drops after puparium formation and reaches its minimum in the 40 hour-pupa. From then onwards it shows again a gradual increase. The oxygen consumption of *ltr/ltr* pupae, though lower than that of the normal controls, is fairly high at the outset of metamorphic changes. It drops fast during the first 20 hours and then more slowly until 40 hours, and after this time remains constant at a level of about 50% of the minimum value reached in the controls.

It was pointed out by AGRELL (1953) that, in the pupal development of *Calliphora*, the rising part of the respiratory curve is predominantly concerned with the formation of imaginal muscles. Though a histological analysis of the *ltr* pupae is lacking, the small size of the mesothorax (cf. Fig. 5) suggests that the formation of the large imaginal thorax musculature will have been suppressed.

CHEN also found that the oxygen uptake in the partially metamorphosing pupae is always significantly higher than in the non-metamorphosed individuals. And, which is very interesting, this difference is already detectable at those early stages of pupal development where the two types of lethal homozygotes are morphologically indistinguishable.

It seems at least suggestive now to correlate CHEN's data on oxygen consumption with our findings that lack of oxygen accounts for the incomplete metamorphosis in *ltr/ltr* pupae.

As the work of FRAENKEL and HERTFORD (1938) on the respiration of insects through the skin has a direct bearing on this problem, we may first discuss some of their data here. The authors measured the oxygen consumption of blowfly larvae where either only the front spiracles are ligatured off, or where the whole connection with the outside air is cut off by ligaturing both the front and the hind spiracles. When ligaturing the front spiracles only, it was found that the oxygen-uptake was lowered to about one-half of its normal value. In twice-ligatured larvae, however, the oxygen uptake was reduced to about one-quarter of the value in the once-ligatured larvae. When placed in pure oxygen their oxygen consumption increases about four times. Once-ligatured larvae, however, show no rise in oxygen uptake when subjected to oxygen. These experiments show that when the oxygen tension drops below a certain critical level, as in the double-ligatured larvae, the oxygen consumption becomes entirely dependent on the oxygen tension.

If we regard CHEN's findings in the light of these data the following interpretation of metamorphosis in homozygous *ltr* pupae may become possible. The lower oxygen uptake in the lethal pupae may be due to a decrease of the oxygen pressure in these animals. Though we do not know if the oxygen uptake of *ltr* pupae would be raised when they were subjected to oxygen, our experiments showed that oxygen strongly promotes both the frequency and the intensity of imaginal differentiation. Likewise the higher oxygen consumption in the partially metamorphosing *ltr* pupae might be due to a higher oxygen pressure. As stated above CHEN found that the difference in rates of oxygen consumption between the partially-metamorphosing and non-metamorphosing individuals is already significant at the beginning of pupal development. This might indicate that the partially metamorphosing pupae are already, from the time of puparium formation, in a more favourable condition as far as their oxygen supply is concerned.

Moreover, it seems a striking coincidence that the frequency of pupae showing abdominal metamorphosis in oxygen about equals that of metamorphosis in the head and thorax region of pupae kept in air. Pupae in which imaginal differentiation of the abdomen is possible in oxygen thus may be identical with those showing only partial metamorphosis in air.

The development of eye implants in undifferentiated lethal pupae, on the other hand, showed that the reaction capacity of the *ltr/ltr* imaginal primordia is significantly weakened.

The experiments of FRAENKEL and HERTFORD (1938) showed that when twice-ligatured larvae are placed in pure oxygen their oxygen-uptake rises about four times, thereby reaching a level equivalent to one-half of a normal larva. KALMUS (1937), in measuring the rate of differentiation under different oxygen tensions, proved that the time of differentiation can be considered as a function of the oxygen tension. Since conditions similar to those in twice-ligatured larvae probably apply to *ltr/ltr* pupae, a considerable delay in the completion of imaginal differentiation has to be expected.

The minimal time during which lethal pupae must be kept in oxygen to give a maximum percentage of imaginal differentiation proves that this is true. We found 100–120 hours for the head and thorax and 140 hours for the abdomen (see Fig. 3). The times of these hypodermal differentiations in the normal animal amount to 50–75 and 78–82 hours respectively (BODENSTEIN 1950). In this respect there is also a similarity between the *ltr/ltr* pupae and abdomens cut off from the thoracic air supply before the critical period (BODENSTEIN 1939b).

We will not go into a detailed discussion of how the abnormal pattern of development in the *ltr* mutant may have originated. GLOOR's (1949) findings that the percentage of globulin in the total protein content of the lethal larvae is exceedingly low, may finally be mentioned.

Acknowledgements.

The authors wish to express their gratitude to Professors E. HADORN and CHR. P. RAVEN for the interest they showed in the work and for reading the manuscript. They are very much

indebted to Dr. D. S. FALCONER for correcting the English and his helpful criticism. They wish to acknowledge the facilities provided by the Institute of Animal Genetics, University of Edinburgh for the completion of the manuscript. Special thanks are due to Mr. E. D. ROBERTS for preparing the drawings.

Summary.

Development of *lethal translucida* pupae is under normal conditions predominantly blocked in the early pupal stages. Imaginal differentiation, though almost exclusively restricted to the head and thorax, is exhibited in only 20–30% of the individuals.

When *ltr* pupae are subjected to pure oxygen both the frequency and the intensity of imaginal differentiation is strongly increased. Then 60–70% of the pupae shows metamorphosis of the head and thorax, whereas abdominal differentiations could be observed in about 20%.

The minimal time during which the pupae must be kept in oxygen, to give a maximum percentage of metamorphosing individuals in air, is 100–120 hours for differentiations of the head and thorax and about 140 hours for those of the abdomen.

These experimental results suggest that part of the incomplete metamorphosis in homozygous *ltr* pupae is due to an insufficient supply of oxygen.

The differentiation of normal eye implants within non-metamorphosed *ltr* pupae showed that the reaction capacity of the imaginal tissues in the *ltr/ltr* genotype is also significantly weakened.

In the discussion of the results, our data have been related to those of CHEN on lowered oxygen consumption in *ltr* pupae. It seems probable that in those *ltr* pupae showing metamorphosis of the head and thorax, a better oxygen supply existed already from the time of puparium formation.

References.

- AGRELL, T.: Mobilization of metabolic energy during insect metamorphosis. Trans. Ninth Int. Congr. Ent. **2**, 73 (1953). — BODENSTEIN, D.: Untersuchungen zum Metamorphoseproblem. I. Kombinierte Schnürungs- und Transplantationsexperimente an *Drosophila*. Roux' Arch. **137**, 474 (1938). — Imaginal differentiation inaugurated by oxygen in *Drosophila* pupae. Proc. Nat. Acad. Sci. **25**, 14 (1939a). — Investigations on the problem of metamorphosis. VI. Further studies on the pupal differentiation center. J. of Exper. Zool. **82**, 329 (1939b). — The postembryonic development of *Drosophila*. Biology of *Drosophila*, ed. by M. DEMEREC, 275–367. 1950. — CHEN, P. S.: A comparative study of the oxygen consumption in the three lethal mutants "*ltr*", "*lgl*", and "*lme*" of *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre **84**, 38 (1951). — EPHRUSSI, B., and G. W. BEADLE: A technique of transplantation for *Drosophila*. Amer. Naturalist **70**, 218 (1936). — FRAENKEL, G., and G. V. B. HERTFORD: The respiration of insects through the skin. J. of Exper. Biol. **15**, 266 (1938). — GLOOR, H.: Biochemische Untersuchungen am Letalfaktor "*letal translucida*" (*ltr*) von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. **56**, 281 (1949). — HADORN, E.: Gene action in growth and differentiation of lethal mutants of *Drosophila*. Symposia Soc. Exper. Biol. No 2. — Growth, 177 (1948). — Zur Entwicklungsphysiologie der Mutante "*letal-translucida*" (*ltr*) von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. **56**, 271 (1949). — KALMUS, H.: Die Entwicklungsdauer von *Drosophila*-puppen bei verschiedener Sauerstofftension. Z. vergl. Physiol. **24**, 409 (1937). — ROBERTSON, C. W.: The metamorphosis of *Drosophila melanogaster*,

including an accurately timed account of the principal morphological changes. J. of Morph. **59**, 351 (1936). — SOBELS, F. H.: Experimentell erzeugte Nachkommenschaft von letalen Ovarien der Mutante *letal-translucida* (*ltr*) von *Drosophila melanogaster*. Experientia (Basel) **4**, 139 (1950).

Dr. F. H. SOBELS, Genetisch Instituut der Rijksuniversiteit, Stationsstraat 9,
Utrecht, Holland.

Druckfehlerberichtigung zu Seite 302 dieses Bandes.

In der Arbeit P. IHM, „Bemerkungen zur Planung und statistischen Auswertung zytologischer Versuche“, muß auf Seite 302 die Gleichung (6.1),

$$t = \frac{\bar{x} - m}{s} \sqrt{N} = \frac{\bar{x} - m}{A}$$

gelesen werden.

Autorenverzeichnis des 85. Bandes.

- AUERBACH, C., and H. MOSER, An analysis of the mutagenic action of formaldehyde-food. I. Sensitivity of *Drosophila* germ cells. S. 479.
- — Analysis of the mutagenic action of formaldehyde-food. II. The mutagenic potentialities of the treatment. S. 547.
- BRÜCHER, H., Über das natürliche Vorkommen von Hybriden zwischen *Solanum simplicifolium* und *Solanum tuberosum* im Aconquija-Gebirge. S. 12.
- CARTER, T. C., and RITA J. S. PHILLIPS, The sex distribution of *waved-2*, *shaker-2* and *rex* in the house mouse. S. 564.
- CLEFFMANN, G., Untersuchungen über die Fellzeichnung des Wildkaninchens. Ein Beitrag zur Wirkungsweise des Agutifaktors. S. 137.
- DANKO BRNCIC, J., Chromosomal variation in natural populations of *Drosophila guaramunu*. S. 1.
- ESSER, K., Genomverdopplung und Pollenschlauchwachstum bei Heterostylen. S. 28.
- EUE, L., Über die entwicklungsphysiologischen Grundlagen der Selbststerilität bei der Mutante *defecta* von *Petunia*. S. 423.
- Chlorophyllbestimmungen und Pfropfversuche bei der *Petunia*-Mutante *defecta*. S. 429.
- FALCONER, D. S., Total sex-linkage in the house mouse. S. 210.
- GAUL, H., Genomanalytische Untersuchungen bei *Triticum* × *Agropyrum intermedium* unter Berücksichtigung von *Secale cereale* × *A. intermedium*. S. 505.
- GREEN, M. M., The beadex locus in *Drosophila melanogaster*: Genetic analysis of the mutant *Bx^{r49k}*. S. 435.
- HARTE, C., Untersuchungen über Gonenkonkurrenz und Crossing-over bei spaltenden *Oenothera*-Bastarden. S. 97.
- IHM, P., Bemerkungen zur Planung und statistischen Auswertung zytologischer Versuche. S. 297.
- KNAPP, R., Über Zusammenhänge zwischen Polyploidie, Verbreitung, systematischer und soziologischer Stellung von Pflanzenarten in Mitteleuropa. S. 163.
- KOEPCHEN, W. s. SCHWEMMLE, J. S. 307.
- KOSKE, TH., Artkreuzungsversuche in der *obscura*-Gruppe der Gattung *Drosophila*. S. 373.
- s. MAINX, F., und E. SMITAL. S. 354.
- LAURITZEN, M., Zytogenetische Untersuchungen an den *bas*- und *el*-Koppelungsgruppen von *Antirrhinum majus*. S. 220.
- LAVEN, H., Reziprok unterschiedliche Kreuzbarkeit von Stechmücken (*Culicidae*) und ihre Deutung als plasmatische Vererbung. S. 118.
- LEHMANN, E., Kurze Betrachtungen zu einigen Grundproblemen der Epilobiumgenetik. S. 20.
- MAINX, F., TH. KOSKE und E. SMITAL, Untersuchungen über die chromosomale Struktur europäischer Vertreter der *Drosophila obscura*-Gruppe. S. 354.
- MICHAELIS, P., Das labile Gen *Pallidovariabile* von *Epilobium*, seine Manifestation und Entstehung in verschiedenen Plasmabänderungen. S. 282.
- MOSER, H. s. AUERBACH, C. S. 479, 547.
- NIJENHUIS, L. E. s. SOBELS, F. H. S. 579.
- OFTEDAL, P., The histogenesis of a new tumor in *Drosophila melanogaster*, and a comparison with tumors of five other stocks. S. 408.
- ONDRASCHEK, H., Vererbungsstudien an *Aphiochaeta xanthina* SPEIS (*Phoridae*). S. 347.
- PAGET, O. E., *Cataracta hereditaria subcapsularis*: ein neues, dominantes Allel bei der Hausmaus. S. 238.
- PHILLIPS, RITA J. S. s. CARTER, T. C. S. 564.
- SCHLEGEL-OPRECHT, E., Versuche zur Auslösung von Mutationen bei der zoophagen Cynipide *Pseudeucoila bochei* WELD und Befunde über die stammspezifische Abwehrreaktion des Wirtes *Drosophila melanogaster*. S. 245.
- SCHWARTZ, V., Zur Phänogenese der Flügelzeichnung von *Plodia interpunctella*. S. 51.

- SCHWEMMLE, J., und W. KOEPCHEN, Weitere Untersuchungen zur selektiven Befruchtung. S. 307.
- SMITAL, E. s. MAINX, F., und TH. KOSKE. S. 354.
- SOBELS, F. H., and L. E. NIJENHUIS, An investigation into the metamorphosis of the mutant *lethal-translucida* of *Drosophila melanogaster*. S. 579.
- STUBBE, H., Über mono- und digenbedingte Heterosis bei *Antirrhinum majus* L. S. 450.
- STUBBE, W., Genetische und zytologische Untersuchungen an verschiedenen Sippen von *Oenothera suaveolens*. S. 180.
- STUMM-ZOLLINGER, E., Vergleichende Untersuchung über die Inversionshäufigkeit bei *Drosophila subobscura* in Populationen der Schweiz und Südwesteuropas. S. 382.

	Seite
EUE, L., Über die entwicklungsphysiologischen Grundlagen der Selbststerilität bei der Mutante <i>defecta</i> von <i>Petunia</i> . Mit 1 Textabbildung	423
EUE, L., Chlorophyllbestimmungen und Pfropfversuche bei der <i>Petunia</i> -Mutante <i>defecta</i> . Mit 3 Textabbildungen	429
GREEN, M. M., The beadex locus in <i>Drosophila melanogaster</i> : Genetic analysis of the mutant <i>Bz^{49K}</i> . Mit 4 Textabbildungen	435
STUBBE, H., Über mono- und digenbedingte Heterosis bei <i>Antirrhinum majus</i> L. Mit 14 Textabbildungen	450
AUERBACH, C., and H. MOSER, An analysis of the mutagenic action of formaldehyde-food. I. Sensitivity of <i>Drosophila</i> germ cells. With 8 figures in the text	479
GAUL, H., Genomanalytische Untersuchungen bei <i>Triticum</i> × <i>Agropyrum intermedium</i> unter Berücksichtigung von <i>Secale cereale</i> × <i>A. intermedium</i> . Mit 20 Textabbildungen	505
AUERBACH, C., and H. MOSER, Analysis of the mutagenic action of formaldehyde-food. II. The mutagenic potentialities of the treatment	547
CARTER, T. C., and RITA J. S. PHILLIPS, The sex distribution of <i>waved-2</i> , <i>shaker-2</i> and <i>rex</i> in the house mouse	564
SOBELS, F., H. and L. E. NIJENHUIS, An investigation into the metamorphosis of the mutant <i>lethal-translucida</i> of <i>Drosophila melanogaster</i> . With 6 text-figures	579
Druckfehlerberichtigung zu Seite 302 dieses Bandes	592
Autorenverzeichnis	593

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aufnahmebedingungen.

Der Inhalt der Arbeit soll dem Gebiet der allgemeinen oder speziellen Genetik, der Cytogenetik, der Grenzfragen der Entwicklungsphysiologie und Genetik, der biophysikalischen Grundlagen der Genetik oder der experimentellen Evolutionsforschung angehören. Arbeiten aus den angewandten Gebieten der Tier- und Pflanzenzüchtung oder der Humangenetik werden nur aufgenommen, wenn die Ergebnisse auch für die Grundlagenforschung wichtig sind.

Die eingereichten Manuskripte müssen völlig druckfertig sein. Der Verlag übernimmt Korrekturkosten nur bis zur Höhe von 10% der Satzkosten. Die Manuskripte sind so kurz und übersichtlich wie möglich zu fassen. Außer der deutschen Sprache kann auch eine der anderen drei Kongreßsprachen verwendet werden.

Die für Petitsatz vorgesehenen Manuskriptteile sind am Rande mit einem senkrechten Strich und Hinzufügung des Buchstabens p zu kennzeichnen.

Autorennamen sind im Manuskript mit großen Buchstaben zu schreiben oder doppelt zu unterstreichen.

Lateinische Tier- und Pflanzennamen, Gensymbole und mathematische Formeln sollen *kursiv* gedruckt werden und sind im Manuskript gewellt zu unterstreichen, ebenso weitere Hervorhebungen im laufenden Text. Gesperrter Druck wird nicht ausgeführt.

Literaturhinweise sind im Text durch den Namen des Autors mit der Jahreszahl der Veröffentlichung, z. B. Sax 1947, anzuführen; am Schluß der Arbeit ist ein nach Autorennamen alphabetisch geordnetes Literaturverzeichnis zu geben, welches Titel der Arbeit, Titel der Zeitschrift, Bandzahl, Seitenzahl und Jahreszahl enthält; z. B. SAX, K.: Temperature effects on X-ray induced chromosome aberrations. *Genetics* 32, 75 (1947).

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, zu bevorzugen sind durch Strichätzung reproduzierbare Figuren. Diagramme sind als Bleistiftzeichnungen einzureichen. Abbildungsbeschriftungen sind ebenfalls nur mit Bleistift anzugeben. Die Abbildungen sind getrennt vom Text auf besonderem Bogen einzureichen. Die Abbildungsunterschriften gehören dagegen zum Text und sind dem Manuskript beizugeben.

Fortschritte der Botanik

Begründet von Fritz von Wettstein. Unter Zusammenarbeit mit mehreren Fachgenossen und mit der Deutschen Botanischen Gesellschaft herausgegeben von **Ernst Gäumann**, Zürich, und **Otto Renner**, München.

Vierzehnter Band: **Bericht über das Jahr 1951.** Mit 75 Abbildungen.
IV, 519 Seiten. 1953. DM 59.60

Inhaltsübersicht: **Morphologie:** Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. Von Professor Dr. L. Geitler, Wien. — Morphologie einschließlich Anatomie. Von Professor Dr. W. Troll und Professor Dr. H. Weber, Mainz. — Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung. Von Professor Dr. O. Jaag, Zürich. — Submikroskopische Morphologie. Von Professor Dr. A. Frey-Wyssling, Zürich. — Systemlehre und Pflanzengeographie: Systematik und Stammesgeschichte der Pilze. Von H. Kern, dipl. Naturwiss., Zürich. Systematik der Spermatophyta. Von Professor Dr. K. Suessenguth, München. (Folgt in Band 15). — Paläobotanik. Von Professor Dr. K. Mägdefrau, München. — Systematische und genetische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. F. Firbas, Göttingen. — Ökologische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. H. Walter, Stuttgart-Hohenheim. — Ökologie. Von Professor Dr. Th. Schmucker, Hann.-Münden. (Folgt in Band 15). — Physiologie des Stoffwechsels: Physikalisch-chemische Grundlagen der biologischen Vorgänge. Von Professor Dr. W. Simonis, Hannover. — Zellphysiologie und Protoplasmatik. Von Professor Dr. H.-J. Bogen, Marburg/Lahn. — Wasserumsatz und Stoffbewegungen. Von Professor Dr. B. Huber, München. (Folgt in Band 15). — Mineralstoffwechsel. Von Professor Dr. H. Burström, Lund (Schweden). (Folgt in Band 15). — Stoffwechsel organischer Verbindungen I. (Photosynthese). Von Professor Dr. A. Pirson, Marburg/Lahn. — Stoffwechsel organischer Verbindungen II. Von Professor Dr. K. Paech, Tübingen. — Physiologie der Organbildung: Vererbung. Genetik der Mikroorganismen. Von Professor Dr. H. Marquardt, Freiburg i. Br. Genetik der Samenpflanzen. Von Professor Dr. C. Harte, Köln-Riehl. — Cyto-genetik. Von Professor Dr. J. Straub, Köln-Riehl. — Wachstum und Bewegung. Von Professor Dr. H. v. Guttenberg, Rostock. — Entwicklungsphysiologie. Von Professor Dr. A. Lang, Los Angeles (Calif.). (Folgt in Band 15). — Viren: Bakteriophagen. Von Dr. W. Weidel, Tübingen. (Folgt in Band 15). — Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Praktikum der Pflanzenanatomie

Von Professor Dr. **R. Biebl**, Wien, und Dr. **H. Germ**, Wien. Mit 261 Textabbildungen.
VI, 220 Seiten, 1950. (W)

Steif geheftet DM 19.50; Ganzleinen DM 22.50

Aus den Besprechungen: Das Werk ist als Hilfsbuch für pflanzenanatomische Übungen gedacht, soll es dem Benützer aber auch im Selbststudium ermöglichen, sich gründliche Kenntnisse vom Bau der Pflanzen zu erwerben. Die Pflanzenzelle, die Gewebe und Organe der Pflanzen werden an Hand zahlreicher Beispiele recht ausführlich behandelt. Für jede der aufgeführten Strukturen werden mehrere günstige Untersuchungsobjekte angegeben; da außerdem die meisten der beschriebenen Objekte leicht zu beschaffen sind, steht das zu untersuchende Material stets zur Verfügung. Die zahlreichen, sehr instruktiven Abbildungen erleichtern die Benützung des Buches. Allein aus ihnen kann sich der Anfänger ein Bild vom mikroskopischen Bau der Pflanzen machen, dem Fortgeschrittenen werden die Abbildungen bei vergleichenden Untersuchungen nützlich sein. Die Beschreibungen der einzelnen Objekte werden durch knappe Angaben über die anzuwendende Untersuchungstechnik ergänzt.

Der Inhalt des Werkes ist übersichtlich gegliedert. Besonders erwähnt werden muß die gute Ausstattung. Das Buch erfüllt die an ein Praktikum der Pflanzenanatomie zu stellenden Anforderungen. Wer es gründlich an Hand selbst angefertigter Präparate durchgearbeitet hat, der hat sich solide Kenntnisse der mikroskopischen Morphologie der Pflanzen erworben — und auch heute noch ist die Morphologie die Grundlage des biologischen Wissens.

"Mikrokosmos"

SPRINGER-VERLAG / WIEN

Diesem Heft liegt ein Prospekt des Springer-Verlages, Berlin · Göttingen · Heidelberg, und zwei Prospekte des Springer-Verlages, Wien, bei.

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg. — Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg.
Printed in Germany.

